



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

# **Efecto de la incorporación de leguminosas en pasturas de trópico alto sobre el contenido de ácido linoleico conjugado ALC en la leche**

**Javier Mauricio León Caviedes**

**Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia  
Maestría en Producción Animal  
Línea de Investigación – Nutrición Animal  
Bogotá D.C.  
2011**



# **Efecto de la incorporación de leguminosas en pasturas de trópico alto sobre el contenido de ácido linoleico conjugado ALC en la leche**

**Javier Mauricio León Caviedes**

**Código: 780234**

**Tesis de grado presentada para optar el título de Magister en Producción Animal**

**Director:**

**Juan Carulla Fornaguera, Zoot, Msc, PhD**

**Profesor Asociado Departamento de Producción animal, Universidad Nacional de Colombia**

**Codirector:**

**Martha Pabón Restrepo**

**Profesor Asociado Departamento de Química,  
Universidad Nacional de Colombia**

**Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia  
Maestría en Producción Animal  
Línea de Investigación – Nutrición Animal  
Bogotá D.C.  
2011**

Nota de aceptación:

---

---

---

---

---

---

Firma del presidente del jurado

---

Firma del jurado

---

Firma del jurado

Bogotá D.C Noviembre de 2011

## **Agradecimientos**

A Dios por su gracia infinita, quien permite que las metas y sueños se hagan realidad, y quien nos invita día tras día a ser mejores seres humanos.

A mi esposa Diana Chiquiza, por su paciencia, dedicación y apoyo constante, para sacar este trabajo adelante

A mi madre Martha Caviedes por su entrega, sacrificio y constante motivación

A mi padre Gustavo León por su inmensa sabiduría en los caminos de la vida, a quien aprendí la constancia y honestidad

A mis hermanos Juan Carlos y Diego quienes animan constantemente cada una de las metas

Al grupo de Investigación en Nutrición Animal: Euclides, Constanza, Mauricio, Cesar, Jair, Nancy quienes apoyaron constantemente el proceso de investigación y quienes fueron un gran equipo de trabajo

Al doctor Juan Carulla, por su apoyo y confianza y ha acompañado mi trayectoria de investigación con rigor y dedicación

A la doctora Martha Pabon por sus consejos y motivación constante para salir adelante y emprender nuevos retos

## **Declaratoria de originalidad y reconocimiento**

Yo Javier Mauricio León Caviedes, identificado con C.C 80.075.788 de Bogotá, declaro que los datos publicados en este trabajo de grado corresponden a los resultados del proyecto de investigación titulado **“EFECTO DE LA INCORPORACIÓN DE LEGUMINOSAS EN PASTURAS DE TRÓPICO ALTO SOBRE EL CONTENIDO DE ACIDO LINOLEICO CONJUGADO ALC EN LA LECHE”**, producto de una propuesta original cuyo trabajo de campo fue realizado en fincas de la Sabana de Bogotá. Este trabajo fue financiado con recursos del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y al Departamento Administrativo de Ciencia Tecnología e Innovación COLCIENCIAS.

## Resumen

Con el objetivo de determinar el efecto de la incorporación de leguminosas en pasturas de trópico alto se ejecutaron dos experimentos: en el primero se utilizaron 12 vacas Holstein en lactancia media bajo un diseño de sobrecambio 4x4x4. Se incorporo la leguminosa *Lotus uliginosus* en pasturas de gramíneas *Festuca arundinacea* y *Pennisetum clandestinum*. Se logro buen establecimiento de la asociación *P.clandestinum* + *L. uliginosus* lo cual resulto en mayor consumo de materia seca, mayor producción de leche y mayor contenido de acido linoleico y linolenico en el leche. No se logro un adecuado establecimiento de la asociación *F. arundinacea* + *L. uliginosus*, por esta razón solo fue posible la evaluación de la incorporación de la leguminosa en una pastura. Las vacas que consumieron la pastura pura de *P. clandestinum* presentaron un contenido superior de Acido Linoleico Conjugado.

En el segundo experimento se utilizaron 6 vacas Normado en lactancia media bajo un diseño Switch Back 2x2x3. Se incorporo la leguminosa *Trifolium pratense* en pasturas de *P. clandestinum*. Se logro un buen establecimiento de la leguminosa en la pastura de gramínea lo cual resultó en un mayor consumo de materia seca, mayor producción de leche y sólidos totales. La pastura pura de *P. clandestinum* presentó el mayor contenido de acido linoleico conjugado.

Se concluye que la incorporación de leguminosas en pasturas de trópico alto incrementó la producción de leche y el contenido de sólidos totales. Se identifico un incremento del significativo en el contenido de acido linoleico y acido linolenico en la leche de las vacas que consumieron la leguminosa *L. uliginosus* en pasturas de *P. clandestinum*. Se destaca el potencial de la gramínea pura *P. clandestinum* para la producción de leche rica en acido linoleico conjugado.

**Palabras claves:** Biohidrogenación, Lipólisis, Pastoreo, Polifenoloxidasas, Taninos.

## **Abstract**

To evaluate the legumes inclusion on high tropic pastures, two experiments were carried out. In the first, twelve Holstein cows on mid lactation were used in a changeover design. *Lotus uliginosus* legume was included into *Festuca arundinacea* and *Pennisetum clandestinum* grass. Association between *P. clandestinum* + *L. uliginosus* was well established; it led to greater dry matter intake, milk production and higher linoleic and linolenic acid content.

No well establishment between *F. arundinacea* + *L. uliginosus* was reached, for this reason evaluation of legume was possible only in one pasture. Cows consuming *P. clandestinum* grass alone had higher Conjugated Linoleic Acid CLA content.

In the second experiment six Normando cows in mid lactation were used in a switch back design 2x2x3. Association between *P. clandestinum* and *Trifolium pratense* was well established; it resulted in greater dry matter intake, milk production and total solids. Cows consuming *P. clandestinum* grass alone had higher Conjugated Linoleic Acid CLA content.

It was concluded that inclusion of legumes in high tropic pastures increase milk production and total solids content. Higher content of linoleic and linolenic acid was observed on cows grazing in pastures with *L. uliginosus* and *P. clandestinum*. It was elucidated that cows grazing *P. clandestinum* had higher CLA content.

**Palabras claves:** Biohidrogenación, Grazing, Lipólisis, Polifenoloxidasas, Taninos.



# Contenido

	Pág.
Resumen	VII
Lista de tablas	XI
Introducción	1
Capítulo I	3
1.1 Hipótesis de investigación	3
1.2 Objetivos de investigación	3
1.3 Alcance de investigación	3
1.4 Resultados esperados	4
II. Estado del arte	5
2.1 Definición de Ácido Linoleico Conjugado	5
2.2 Relación entre el Ácido Linoleico Conjugado y la salud	5
2.3 Biosíntesis de Ácido Linoleico Conjugado	7
2.3.1 Biohidrogenación ruminal	7
2.4 Factores que afectan el perfil de ácidos grasos de la leche	9
2.4.1 Estado de lactancia y número de partos	11
2.4.2 Estacionalidad	11
2.4.3 Dieta	11
2.5 Lípidos en los forrajes	12
2.6 Características de las pasturas y ALC	15
2.6.1 Edad de rebrote	15
2.6.2 Mezcla de gramíneas y leguminosas	15
2.7 Conclusiones	20
2.8 Bibliografía	22
III. Efecto de la incorporación de <i>lotus uliginosus</i> en pasturas de trópico alto sobre el perfil de ácidos grasos de la leche	31
3.1 Resumen	31
3.2 Abstract	32
3.3 Introducción	33
3.4 Materiales y métodos	35
3.5 Resultados y discusión	40
3.6 Conclusiones	49
3.7 Agradecimientos	49
3.8 Bibliografía	50
IV. Efecto de la incorporación de trébol rojo <i>trifolium pratense</i> en pastura de kikuyo sobre el perfil de ácidos grasos de la leche	55

X Efecto de la incorporación de leguminosas en pasturas de trópico alto sobre el contenido de ácido linoleico conjugado ALC en la leche

---

4.1	Resumen	55
4.2	Abstract	56
4.3	Introducción	56
4.4	Materiales y Métodos	58
4.5	Resultados y discusión	63
4.6	Conclusiones	69
4.7	Agradecimientos	70
4.8	Bibliografía	70
V.	Conclusiones y recomendaciones	76

## Lista de tablas

Tabla 1. Perfil de ácidos grasos de forrajes utilizados en sistemas de producción de leche en Colombia	14
Tabla 2. Flujo al duodeno y biohidrogenación ruminal de ácidos grasos con ensilajes de ryegrass y trébol rojo	17
Tabla 3. Grado de lipólisis y biohidrogenación ruminal por actividad de la polifenol oxidasa PPO en un sistema in Vitro	18
Tabla 4. Cambios en la población de bacterias ruminales asociados a la presencia de taninos en la dieta	19
Tabla 5. Composición de ácidos grasos de la leche de vacas en pastoreo de Lotus o ryegrass	20
Tabla 6. Composición de ingredientes y nutrientes del alimento balanceado	36
Tabla 7. Descripción del consumo de materia seca de cada una de las diferentes especies presentes en cada pastura	42
Tabla 8. Calidad nutricional de las pasturas	42
Tabla 9. Perfil de ácidos grasos de la pasturas	45
Tabla 10. Consumo de materia seca producción y composición de la leche	46
Tabla 11 Composición de la grasa láctea	48
Tabla 12 Composición de ingredientes y nutrientes del alimento balanceado	60
Tabla 13 Descripción del consumo de materia seca de cada una de las diferentes especies presentes en cada pastura	64
Tabla 14. Calidad nutricional de las pasturas	65
Tabla 15. Consumo de materia seca, producción y composición de la leche	66
Tabla 16. Perfil de ácidos grasos de las diferentes pasturas	67
Tabla 17. Composición de la grasa láctea	69



## Introducción

Los continuos avances en las técnicas de análisis han permitido identificar más de 400 ácidos grasos presentes en la grasa de los rumiantes (Ledoux *et al.*, 2005).

El Ácido Linoleico Conjugado ALC, 18:2 *cis* 9 *trans* 11 ha sido reconocido en modelos animales y cultivos *in vitro* como potencial anticarcinogénico, antidiabetogénico y estimulante de la respuesta inmune que se sintetiza principalmente en la glándula mamaria de los rumiantes a partir del ácido vaccénico, producto de la transformación ruminal de los ácidos linoleico y linolénico provenientes de la dieta (Ip *et al.*, 1999; Khanal *et al.*, 2007).

Los diferentes trabajos (Blas, 2004; Collomb *et al.*, 2006; Dewhurst *et al.*, 2006; Elgersma *et al.*, 2003a, 2003, 2004, 2006; Khanal *et al.*, 2007), sugieren que los factores nutricionales se constituyen en el pilar más importante en la modificación del perfil de ALC de la leche.

En Colombia, a pesar de la existencia de algunos datos que muestran contenidos elevados de ALC en la leche, no se conoce de manera clara cómo la diversidad en las características agroecológicas y de manejo inherente a nuestros hatos lecheros afectan esta composición. Algunos trabajos realizados en el periodo comprendido entre el 2003 y 2007 por el Grupo de Investigación en Nutrición Animal de la Universidad Nacional de Colombia, muestran un rango muy amplio en la concentración de ALC (6.38 a 19.32 mg/g de grasa) en la leche de sistemas especializados con praderas de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) (Rico *et al.*, 2007).

La variación asociada a factores específicos de la dieta puede modificar la biohidrogenación ruminal y por ende el flujo del precursor (C18:1 *trans* 11) a la glándula mamaria. Varios estudios, han demostrado que la biohidrogenación producida por los microorganismos ruminales sobre diferentes ácidos grasos (oleico, linoleico, linolénico), modifican el flujo del precursor de ALC a la glándula mamaria (Bessa *et al.*, 2000;

Chilliard *et al.*, 2001; Ribeiro *et al.*, 2007; Vandorland *et al.*, 2007). Estas variaciones, a su vez, están asociadas a posibles variaciones de las poblaciones ruminales.

Los estudios realizados a la fecha muestran cambios significativos en algunas familias de microorganismos que podrían alterar el flujo del ácido vaccénico desde el rumen (Boeckert *et al.*, 2008; Fukuda *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2000). La mayoría de estos estudios han sido realizados en condiciones de laboratorio o con microorganismos aislados en donde no siempre las respuestas obtenidas obedecen a las complejas interacciones del ambiente ruminal.

# 1. Capítulo 1

## 1.1 Hipótesis de investigación

La incorporación de *Lotus uliginosus* en pasturas de *Pennisetum clandestinum* y *Festuca arundinacea* puede modificar el perfil de ácidos grasos de la leche, favoreciendo el contenido de ácidos grasos insaturados especialmente el ácido linoleico conjugado.

La incorporación de *Trifolium pratense* en pasturas de *Pennisetum clandestinum* puede modificar el perfil de ácidos grasos de la leche, favoreciendo el contenido de ácidos grasos insaturados especialmente el ácido linoleico conjugado.

La incorporación de leguminosas en pasturas de trópico alto puede incrementar la producción de leche y la acumulación de ácidos grasos benéficos para la salud humana.

## 1.2 Objetivos de investigación

Evaluar el efecto de la incorporación de *Lotus uliginosus* en pasturas de trópico alto sobre el perfil de ácidos grasos de la leche

Evaluar el efecto de la incorporación de *Trifolium pratense* en pasturas de *Pennisetum clandestinum* sobre el perfil de ácidos grasos de la leche

Evaluar el efecto de la incorporación de leguminosas en pasturas de trópico alto sobre la producción de leche y la acumulación de ácidos grasos benéficos para la salud humana

## 1.3 Alcance de la investigación

El alcance de este trabajo está en la evaluación independiente de dos leguminosas. *Lotus uliginosus* que es un material introducido recientemente y *Trifolium pratense* cuyo

uso es mas difundido en los sistemas de producción de leche en Colombia. Se tendrá una evaluación del perfil de ácidos grasos de las pasturas en las cuales se incorporaron estas leguminosas y su efecto sobre el perfil de ácidos grasos de la leche.

El efecto de estas leguminosas se ha asociado con la presencia de metabolitos secundarios sobre los cuales no se tendrá una evaluación particular sino directamente sobre los efectos en el perfil de ácidos grasos de la leche.

## **1.4 Resultados esperados**

Lograr una adecuada proporción de la leguminosa dentro de las pasturas para ser evaluadas en cada uno de los estudios

Mayor producción y calidad de leche en las pasturas con leguminosas

Mayor acumulación de ácidos grasos benéficos para la salud humana en la leche producida en pasturas con leguminosas



## **2.Estado del Arte**

### **2.1 Definición de ácido linoleico conjugado**

Los Ácidos Linoleico Conjugados son isómeros geométricos y posicionales del ácido linoleico que se presentan naturalmente en productos lácteos y carne de los rumiantes como resultado de biohidrogenación ruminal incompleta y conversión endógena de ácido *trans* vaccenico (C18:1, *trans* 11) por acción de la enzima  $\Delta_9$  desaturasa (Chin *et al.* 1992 y Grinari *et al.* 2000). La variación en el contenido de ALC en la leche está ligada a factores endógenos (raza, lactancia y estado fisiológico) y exógenos (alimentación y medio ambiente). De estos, la alimentación es el factor de mayor influencia sobre el contenido de ALC (Bauman *et al.* 2003).

Existen dos isómeros de ALC ampliamente conocidos con actividad fisiológica. Estos son el C18:2 *cis*9, *trans*11 ALC, (ácido ruménico) el cual se encuentra en productos lácteos y cárnicos de rumiantes, y el C18:2 *trans*10, *cis*12, un isómero predominante en los suplementos de ALC. Los estudios en animales sugieren que el ácido ruménico es el responsable principal de los isómeros de ALC que presentan actividades anticancerogénicas en ratas (Ip *et al.* 1999 and O'Shea *et al.* 2000), y posiblemente en humanos (Aro *et al.* 2000 and Belury 2002), mientras el C18:2 *trans*10, *cis*12, es un isómero que altera el metabolismo de lípidos incluyendo la depresión en la síntesis de grasa láctea (Bauman *et al.* 2003).

### **2.2 Relación entre el ácido linoleico conjugado y la salud**

Desde el punto de vista de la salud humana, la grasa láctea se ha considerado como hipercolesterolémica, debido principalmente a su elevado contenido de ácidos grasos saturados (60 – 65%) por lo cual la leche se ha relacionado con efectos negativos para la salud, generando limitaciones en su consumo, con el consecuente impacto en la

demanda de productos alimenticios de origen animal (Blas, 2004). A nivel local, Rico *et al.* (2007), encontraron un contenido de 63,6 y 36,4% de ácidos grasos saturados e insaturados respectivamente en leches producidas en la Sabana de Bogotá.

En Colombia, las enfermedades cardiovasculares se sitúan como la principal causa de muerte en la población llegando a un 50%, y las muertes por cáncer representan cerca de un 12% (asivamosensalud.org, 2006). El reconocimiento de ALC como componente funcional de los alimentos para mitigar el impacto de estas enfermedades en la población, se produce de manera accidental cuando se descubren sus propiedades antimutagénicas en la carne bovina cocida buscando precisamente agentes mutagénicos en la misma (Pariza, 1985). Desde este momento se le ha venido prestando gran atención a la composición de la grasa con el objetivo de incrementar los niveles de ALC.

Un aspecto de importancia práctica en el que se viene trabajando es en la estimación de la cantidad efectiva mínima de este compuesto a consumir diariamente por un ser humano para tener un efecto terapéutico o protector sobre la salud. Algunos autores han hecho estas estimaciones extrapolando las dosis encontradas en animales experimentales, dada la imposibilidad de hacerlo directamente en humanos.

Ritzenthaler *et al.* (2001), reportó que se deben consumir más de 400 mg de ALC *cis* 9 *trans* 11 por día para obtener los efectos benéficos sobre la salud y que la leche y los productos lácteos incorporados de manera convencional en la dieta representan una oportunidad para lograr este objetivo. De tal manera, el aumento en las concentraciones de ALC *cis* 9, *trans*11 en la leche se constituye en una alternativa fundamental para incrementar de manera rápida y sencilla el consumo de este compuesto en la dieta.

Los primeros estudios desarrollados en Colombia que reportan contenidos de ALC promedio de 13.5 mg/g de grasa en la Sabana de Bogotá (Rico *et al.* 2007) y asumiendo un consumo de leche per cápita de 136 litros (AGROCADENAS, 2006), significa un consumo de ALC de 175 mg/d, aun por debajo de lo establecido por Ritzenthaler *et al.* (2001) para obtener los beneficios sobre la salud, pero por encima de lo establecido por Gagliostro (2004) como dosis preventiva de 80 mg/d.

Otro factor de gran importancia desde el punto de vista de salud humana es la relación de ácidos grasos omega 6  $\omega$ 6 omega 3  $\omega$ 3. Aunque una relación ideal entre estos dos

ácidos grasos sería 1:1, las dietas occidentales presentan relaciones 15-16,7:1 (Simopoulos 2008). Estas dietas son deficientes en ácidos grasos  $\omega$ 3 y tienen cantidades excesivas de  $\omega$ 6. Esta situación promueve la patogénesis de muchas enfermedades incluyendo problemas cardiovasculares, cáncer y enfermedades inflamatorias y autoinmunes. La relación óptima  $\omega$ 6: $\omega$ 3 puede variar dependiendo del tipo de enfermedad pero en general los valores deseables se encuentran en una relación inferior a 4:1. Por esta razón existe la necesidad de incrementar los ácidos grasos  $\omega$ 3 en muchos alimentos en los que se incluyen la leche y sus derivados dada su importante participación en la dieta de la sociedad (Lock and Bauman 2004).

Lo anterior plantea el reto de incrementar los contenidos de ALC en la leche y que dada la variabilidad que se encuentra en nuestros sistemas de producción nos lleva a identificar la estrategia de manejo alimenticia, basada en pastoreo, más adecuada para conseguir este objetivo.

## **2.3 Biosíntesis de ácido linoleico conjugado**

El ALC que se encuentra en la leche y carne de los rumiantes se origina principalmente de dos fuentes: isomerización y/o biohidrogenación por acción de los microorganismos del rumen de los ácidos grasos poliinsaturados y de la desaturación de los ácidos grasos *trans* en el tejido adiposo y glándula mamaria. De esta manera, el ALC que se encuentra en los productos derivados de los rumiantes se relaciona con la biohidrogenación ruminal incompleta de los ácidos grasos insaturados de la dieta (Bauman et al., 2003)

### **2.3.1 Biohidrogenación ruminal**

Los lípidos en la alimentación de los rumiantes se derivan de los forrajes, granos y suplementos oleaginosos y corresponde entre un 3 y 7% de la materia seca de la dieta. Los lípidos consumidos por los rumiantes están sometidos a dos procesos en el rumen. En un primer paso son hidrolizados rápidamente a ácidos grasos libres por acción de lipasas microbiales. En un segundo paso, los ácidos grasos insaturados libres son

hidrogenados a ácidos grasos saturados vía isomerización a ácidos grasos *trans*, seguido por la hidrogenación de los dobles enlaces (Harfoot y Hazlewood, 1988).

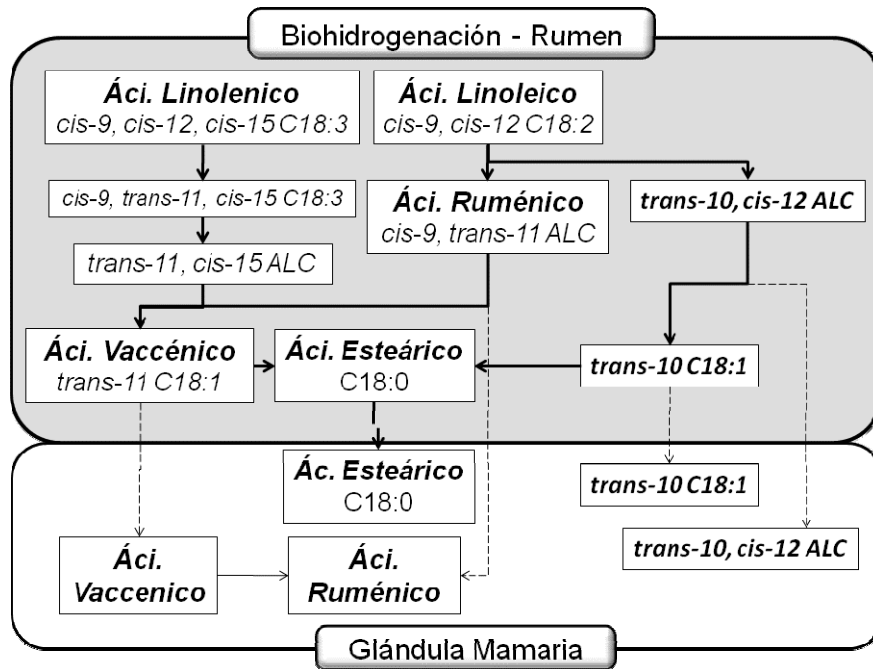
Las bacterias involucradas en la biohidrogenación se clasifican en dos grupos, el **grupo A** que hidrogena los ácidos grasos poliinsaturados a *trans-11* (Vlaeminck et al, 2008) o bacterias que producen biohidrogenación sólo hasta 18:1 (Jenkins et al, 2008) y el **grupo B** hidrogena el ácido vaccénico (18:1 *trans* 11) a ácido esteárico (18:0) y el *trans-11, cis-15* ALC a *trans-15* o *cis-15* C18:1 (Vlaeminck et al, 2008).

En el proceso de biohidrogenación del ácido linolenico (C18:3) intervienen los dos grupos, mientras que en el ácido linoleico (C18:2) se involucran principalmente las bacterias del grupo **A** y algunas del **B** pero de forma transitoria. Las bacterias más representativas del grupo **A** en la isomerización del ácido linolenico y linoleico son el *B. fibrisolvens* y *Eubacterium*, aunque otras bacterias hacen esta isomerización de una manera transitoria como es el caso del *Ruminococcus albus* (Rojas et al, 2005).

El primer paso en la biohidrogenación del ácido linolenico (C18:3) es la isomerización del enlace *cis-12* a la posición del C11 ó C13 (Jenkins et al, 2008), produciendo *cis-9, trans-11, cis-15* C18:3 (Rojas et al, 2005), luego uno de los dobles enlaces es hidrogenado para producir un C18:2 (Jenkins et al, 2008), produciendo *trans-11, cis-15* ALC, seguido de la hidrogenización de otro enlace, produciendo un C18:1 (Jenkins et al, 2008), el *trans-15* ó *cis-11* o en *trans-11* (Rojas et al, 2005), el cual es hidrogenado para producir el ácido esteárico (C18:0) como producto final (Jenkins et al, 2008).

La principal vía en la biohidrogenación del ácido linoleico (C18:2) consiste en una isomerización inicial para producir ácido ruménico 18:2 *cis-9 trans-11*, el cual es biohidrogenado para producir ácido vaccénico 18:1 *trans-11* y su biohidrogenación produce ácido esteárico (C18:0) (Moate *et al*, 2008). El ácido vaccénico se constituye en un intermediario común de la biohidrogenación incompleta de los ácidos linoleico y linolenico y es el más importante de los isómeros C18:1 (Doreau y Chilliard, 1997), representando sistemas *in vitro* el 88 al 95% del total de *trans*-C18:1 (Abughazaleh y Jenkins, 2004). En la Figura 1 se presenta un resumen de la producción de intermediarios de la biohidrogenación ruminal y la síntesis de ácido ruménico en la glándula mamaria.

El grado de biohidrogenación ruminal de los ácidos grasos poliinsaturados está influenciado por la concentración inicial de ácido linoleico en la dieta (Harfoot 1973), la tasa de pasaje y el pH ruminal (Troegeler- Meynadier *et al.*, 2003; Qiu *et al.*, 2004).



**Grafica 1.** Modelo de Biohidrogenación ruminal. (Adaptado de Harfoot and Hazlewood 1997 y Bauman *et al.* 2003)

## 2.4 Factores que afectan el perfil de ácidos grasos en la leche

La alta variación en el contenido de ALC en la leche está asociada con una diversidad de factores los cuales se pueden agrupar en los relacionados a la dieta, al animal y al manejo pos-ordeño. De estos, la dieta presenta el mayor impacto y se ha constituido en la principal herramienta para incrementar el contenido de ALC en la leche (Khanal y olson, 2004). De acuerdo a lo que se ha discutido hasta el momento la biosíntesis de ALC *cis 9 trans 11*, depende de la cantidad de substrato en el alimento, el grado de biohidrogenación en el rumen y la actividad de la  $\Delta_9$ -desaturasa en la glándula mamaria.

Por lo tanto, el éxito de las estrategias de manejo nutricional que busquen incrementar el contenido de ALC en la leche depende del grado de influencia que generen sobre estos factores.

El forraje fresco es un fuente rica de ácido linolénico, sin embargo, su concentración varía de acuerdo con el estado de crecimiento y la manera como se suministre. La variación en el contenido de ácidos grasos en el forraje determina la cantidad de sustrato que consume el animal para la síntesis de ALC *cis* 9 *trans* 11. Recientemente Mohammed *et al.* (2009), sugiere que aproximadamente 75% de la variabilidad en el contenido de ALC en la leche puede ser explicada por la variación en el consumo total de sustrato. El resto de variabilidad se debe a diferentes factores que regulan la producción de ácido vaccénico *trans* 11 en el rumen y su oferta a la glándula mamaria. Entre estos factores se incluyen diferencias en consumo de materia seca, pH ruminal, poblaciones de bacterias, características del consumo y cinética de digestión que favorecen el incremento de la producción ruminal de ácido vaccénico o la inhibición de la biohidrogenación y diferencias en el flujo y asimilación de los intermediarios por la glándula mamaria (Mohammed *et al.* 2009).

Se han desarrollado diferentes aproximaciones nutricionales para incrementar el contenido de ALC en la leche tales como la suplementación con aceites de plantas y semillas (Dhiman *et al.* 2000), aceite de pescado o algas (Chouinard *et al.*, 1998). Su influencia está determinada por el incremento en la oferta de ácido linoleico y linolénico en la dieta, y por la disminución de la biohidrogenación ruminal en el caso del aceite de pescado (Nelson y Martini, 2009).

Los metabolitos secundarios de las plantas tales como aceites esenciales se han sugerido como medios potenciales para manipular las poblaciones microbiales involucradas en la biohidrogenación ruminal y así modificar la composición de ácidos grasos en los productos de los rumiantes. Por ejemplo Durmic *et al.* (2008) observó que los extractos etanólicos y aceites esenciales de algunas plantas Australianas inhibieron selectivamente el crecimiento de cultivos puros de algunas bacterias (ej, *Clostridium proteoclasticum*) involucradas en la biohidrogenación ruminal y que algunos inhibieron la saturación del ácido linoleico y otros intermediarios tales como el ALC y ácido vaccénico. Lo anterior, demuestra el potencial de los metabolitos secundarios de las plantas para

incrementar la producción de ALC y ácido vaccénico desde el rumen e incrementar el contenido de estos ácidos grasos en la leche (Benchaar y Chouinard, 2009).

### **2.4.1 Estado de lactancia y número de partos**

De La Fuente *et al.* (2009), sugiere que la influencia del estado de lactancia y el número de partos sobre el contenido de ácidos grasos en la leche es mínimo y estimó valores de 1,4 y 2,3% respectivamente. Estos resultados están de acuerdo a lo reportado por Kelsey *et al.* (2003), y concluyen que los factores fisiológicos como estado de lactancia y número de partos tienen una influencia muy inferior sobre el contenido de ALC en la leche cuando se compara frente a los factores dietarios.

### **2.4.2 Estacionalidad**

El contenido de ALC y ácido linolénico incrementaron en un 44 y 30% respectivamente de invierno a primavera-verano lo cual indica la importancia del efecto de la alimentación sobre el contenido de este ácido graso (De La Fuente *et al.* 2009). Estos resultados fueron también observados por Chilliard *et al.* (2003), en vacas, ovejas y cabras. Estos autores relacionan el efecto de la estación al consumo de pasto fresco y al aumento de la diversidad botánica de las pasturas.

### **2.4.3 Dieta**

Durante los últimos años diferentes investigaciones han llevado a la conclusión que la alimentación a base de pasturas incrementa de manera significativa el contenido de ALC en la leche (Kay *et al.*, 2004; Khanal *et al.*, 2003; Loores *et al.*, 2002). Estos resultados han sido confirmados recientemente por Slots *et al.* (2009), quien destaca la importancia de los sistemas de producción de leche basados en pastoreo para producir leche con propiedades benéficas para la salud debido a su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados. Otros investigadores destacan la suplementación en dietas totalmente mezcladas o TMR con aceites de semillas o plantas (Khanal *et al.*, 2003, Lock *et al.* 2004) y aceite de pescado (Abu-Ghazaleh *et al.* 2003), como estrategias potenciales. Sin embargo, su aplicación en los sistemas de producción de leche es limitada.

La manipulación de la dieta involucra principalmente la oferta de ácido linoleico (C18:2) o linolenico (C18:3) como sustratos para la biohidrogenación ruminal. Dependiendo del tipo, los aceites de semillas o plantas contienen ácido linoleico o linolenico como el ácido graso principal, mientras en las pasturas predomina el ácido linolénico y en los aceites de pescado predominan ácidos grasos de 20 o 22 carbonos (Khanal y Olson, 2004). De acuerdo a los estudios desarrollados recientemente en Colombia, las vacas que consumen pasturas jóvenes presentan mayores contenidos de ALC en la grasa láctea (Aguilar *et al.* 2009) debido a que este tipo de pasturas poseen mayores contenidos de precursores para la síntesis de este compuesto. Adicional a la edad, se ha encontrado que al aumentar la diversidad de especies disponibles en la pastura incrementa el contenido de ALC en la grasa láctea (Collomb *et al.* 2006). Inicialmente esto fue asociado en mayor medida a la composición de ácidos grasos de la pastura. Sin embargo, recientemente Lourenco *et al.* (2008), relaciona este efecto con la presencia de metabolitos secundarios en las pasturas diversas que modifican el patrón de biohidrogenación ruminal, favoreciendo la acumulación de ácido vaccenico *trans* 11 en el rumen.

## 2.5 Lípidos en los forrajes

La fracción de lípidos tiene un rango entre 30 a 100 g/kg de MS los cuales se encuentran en su mayoría en los cloroplastos (Bauchart *et al.* 1984, citado por Elgersma 2004). El contenido de lípidos en los cloroplastos varía entre un 22 y 25% de la materia seca. Los lípidos están presentes principalmente como glicolípidos y fosfolípidos (Harwood 1980; Harfoot and Hazlewood 1988). La composición de los lípidos en los forrajes está dada por 33% lípidos simples (diglicéridos, ácidos grasos libres y ceras), 50% galactolípidos (mono y digalactoglicéridos) y 17% fosfolípidos (Bauchart *et al.* 1984).

Las fuentes de variación en la concentración de lípidos están dadas por las especies de plantas, estado de crecimiento, temperatura e intensidad de la luz (Hawke 1973, citado por Elgersma 2004). Hay cinco ácidos grasos presentes de manera mayoritaria en los pastos, y aproximadamente 95% consisten de C18:3, C18:2 y C16:0. El ácido linoleico (C18:2) y linolenico (C18:3), son los sustratos de 18 carbonos para la biohidrogenación ruminal y posterior incorporación en forma de ALC en la leche. Los forrajes frescos



contienen una alta proporción (50 - 75%) del contenido total de ácidos grasos en forma de C18:3 y su contenido varía con factores ambientales tales como estado de madurez (Elgersma *et al.* 2003a, 2004), la estacionalidad y la intensidad de la luz (Dewhurst and King 1998).

El contenido de ácidos grasos en los forrajes es importante para la calidad de los productos derivados de los rumiantes. Sin embargo, se desconocen los efectos de las prácticas agronómicas y los factores ambientales relacionados a la variación en la concentración y composición de ácidos grasos.

Witkowska *et al.* (2008), encontró una correlación positiva entre la concentración de nitrógeno y ácidos, grasos confirmando las observaciones de Boufaied *et al.* (2003) y Elgersma *et al.* (2005). La alta disponibilidad de nitrógeno estimula la producción de materia seca, incrementa la cantidad de hojas y estimula la síntesis de componentes metabólicos en los que se incluyen la clorofila y proteína de la hoja. Con el desarrollo de la planta, la proporción de hojas con respecto a la materia seca de la planta disminuye, y el aumento de la pared celular reduce los contenidos celulares (Witkowska *et al.* (2008). De esta manera, se puede incrementar los contenidos de ácidos grasos en la planta a través de la fertilización nitrogenada y a través del manejo de periodos de rebrote cortos.

La fertilización nitrogenada incrementa la proporción de ácido linolénico, diferente a los demás ácidos grasos en los cuales la proporción disminuye, y por efecto del estado de crecimiento la proporción de ácido linolénico disminuye y los demás ácidos grasos aumentan su proporción (Boufaied *et al.* 2003). Es importante este comportamiento dado el espacio que ocupa el ácido linolénico en la composición de ácidos grasos de la planta, pues representa más del 50% del contenido total de ácidos grasos.

Otro factor que determina de manera importante el contenido y composición de ácidos grasos es la especie de forraje, pues se presentan variaciones importantes de acuerdo con la especie, lo cual resultaría en diferencias en los niveles de ALC en la leche.

El Grupo de Investigación en Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia en estudios preliminares (datos no publicados) determinó el perfil de ácidos grasos de algunos de los forrajes utilizados en los sistemas de producción de nuestro país, encontrando una variación importante en los perfiles de las diferentes especies analizadas (Tabla 1). Estos datos sugieren que el kikuyo podría tener un mayor potencial

para generar ALC en la leche, debido al alto contenido de ácido linolénico frente a otras especies.

Adicionalmente al complementar esta información con los datos reportados por Boufaied *et al.* (2003) en Canadá, se observa como la *Festuca* presenta un contenido importante de ácido linolénico al igual que algunas leguminosas como el *Lotus* y trébol blanco.

**Tabla 1.** Perfil de ácidos grasos de forrajes utilizados en sistemas de producción en Colombia

Especie	Ácidos grasos (%del total de AG)						Total AG % MS
	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	
<u>Gramíneas Trópico Alto</u>							
<sup>a</sup> Ryegrass	2,5	34	4,7	1,5	12,3	45	2,6
<sup>a</sup> Kikuyo	-	15,1	4,8	3,8	22,5	53,8	2,7
<sup>b</sup> <i>Festuca arundinacea</i>	0,4	19,5	1,9	4,8	13,5	57,0	2,0
<u>Gramíneas Trópico Bajo</u>							
<sup>a</sup> <i>B. decumbens</i>	4,6	34,4	9,5	14,7	14,4	20,3	-
<sup>a</sup> Estrella	2,9	27,7	10,6	11,0	21,8	27,9	-
<sup>a</sup> Alfalfa	3,6	17,5	7,3	22,0	21,1	30,0	1,7
<u>Leguminosas Trópico Alto</u>							
<sup>b</sup> Trébol blanco	0,4	17,6	3,0	4,7	15,5	55,6	2,8
<sup>b</sup> <i>Lotus corniculatus</i>	0,8	20,2	2,8	6,7	18,7	46,0	2,5
<sup>b</sup> Trébol rojo	0,4	18,9	3,6	7,7	23,2	43,2	2,2

<sup>a</sup> Grupo de Investigación en Nutrición Animal, sin publicar. <sup>b</sup> Boufaied *et al.* 2003

## 2.6 Características de las pasturas y ALC

### 2.6.1 Edad de rebrote

La edad de rebrote modifica la cantidad y la composición de ácidos grasos. La alimentación de vacas con forrajes de mayor edad disminuye de manera significativa el contenido de ALC en la leche, asociado a una disminución de precursores poliinsaturados en la dieta. En la sabana de Bogotá Aguilar *et al.* (2009) encontró que el contenido de ALC en la leche de vacas en pastoreo de kikuyo disminuyó ( $P < 0.01$ ) de 22.4 a 14.4 mg/g de grasa al aumentar la edad de rebrote de 50 a 70 días. Estos resultados están de acuerdo con lo reportado por Ferlay *et al.* 2006 quien observó una disminución ( $P < 0.01$ ) de 17.2 a 8 mg/g de grasa cuando la edad de rebrote cambió de 21 a 42 días en una pastura nativa conformada por 50% de *Festuca rubra*.

Estos resultados evidencian la manera como se pueden manejar la edad de rebrote de las pasturas para incrementar los contenidos de ALC en la leche. Sin embargo, es necesario establecer cuáles son las edades de rebrote adecuadas para incrementar los niveles de ALC en la leche en las diferentes especies utilizadas en la Sabana de Bogotá.

Existe poca información en cuanto a la influencia del tipo de forraje en la composición de la grasa de la leche, sin embargo, como se observa en la Tabla 1, hay gran variación entre las diferentes especies en la composición de ácidos grasos, lo que resultaría en diferentes contenidos de ALC en la leche. En la medida que se determine el perfil de ácidos grasos de las especies utilizadas de manera convencional en los sistemas de producción de leche de la Sabana de Bogotá y su efecto sobre el contenido de ALC en la leche, se puede llegar a recomendaciones precisas sobre las especies y edad de pastoreo ideales para incrementar los niveles de ALC en la leche.

### 2.6.2 Mezclas de gramíneas y leguminosas

En los últimos años se ha desarrollado un creciente interés sobre los efectos que tiene la alimentación con pasturas cuya composición botánica es diversa, sobre el contenido de ácidos grasos benéficos en productos de rumiantes. Adnoy *et al.* (2005), reportó que el contenido de ácidos grasos poliinsaturados PUFA en la grasa intramuscular de corderos

incrementó al pasar de una pastura monocultivo a una pastura diversa. Además Collomb *et al.* (2002), mostró como la diversidad de las pasturas incrementa los contenidos de ALC en la leche comparados con los niveles encontrados en pasturas sin asociar.

El incremento en las proporciones de ALC *cis* 9 *trans* 11 en la leche y grasa intramuscular de los rumiantes alimentados con pasturas de una composición botánica diversa se ha asociado con el incremento en el flujo de ácido vaccénico C18:1 *trans* 11 desde el rumen, el cual es principal precursor de la producción endógena de ALC *cis* 9 *trans* 11. Este efecto se ha asociado con la presencia de algunos metabolitos secundarios que se encuentran en las pasturas diversas, y que se sugieren como potenciales modificadores de la biohidrogenación ruminal (Lourenco *et al.* 2008).

La presencia de compuestos secundarios en las plantas tales como polifenoles y terpenoides pueden inhibir los microorganismos que hidrogenan en el rumen. En zonas con estaciones, estos compuestos se ven afectados ampliamente por la estación climática debido a cambios asociados a la composición botánica de la pastura. Fedele (2001), observó que en invierno cuando en las pasturas predominan las gramíneas la leche es rica en alcoholes y en primavera cuando surgen diferentes especies vegetales los compuestos predominantes son alcoholes y cetonas. Este hecho se explica porque la composición botánica de la pastura nativa cambia de un dominio de monocotiledóneas (gramíneas) en invierno a un dominio de dicotiledóneas (leguminosas y herbáceas) en primavera, esta variabilidad modifica el contenido de compuestos secundarios en la dieta y se refleja en la presencia de compuestos como alcoholes y sesquiterpenos en la leche (16.280 vs 93.190 ng/g MS y 209 vs 3.332 ng/g MS respectivamente) y derivados lácteos producidos durante esta estación.

Lourenco *et al.* (2008), discuten sobre las diferencias con relación a los cambios en la digesta ruminal y duodenal, los cuales incrementan los contenidos de C18:3 en leche y grasa intramuscular debido a la alimentación con trébol rojo o blanco y pasturas diversas; sin embargo, estos incrementos pueden no ser atribuidos necesariamente al incremento en la oferta de ácido linolénico C18:3 sino a un efecto sobre la fermentación ruminal. Las explicaciones recaen sobre el incremento en el flujo de C18:3 desde el rumen debido a la disminución en la lipólisis ruminal (Tabla 2).

**Tabla 2.** Flujo al duodeno y biohidrogenación ruminal de ácidos grasos con ensilajes de Ryegrass y Trébol rojo

	Tipos de ensilajes			Significancia
	RG	RG+TR	TR	
<b>Consumo total, g/d</b>				
<b>C18:0</b>	301 <sup>c</sup>	340 <sup>c</sup>	323 <sup>c</sup>	***
<b>C18:2</b>	98 <sup>ab</sup>	117 <sup>a</sup>	122 <sup>a</sup>	***
<b>C18:3</b>	84 <sup>b</sup>	99 <sup>b</sup>	77 <sup>c</sup>	***
<b>Flujo duodeno, g/d</b>				
<b>C18:0</b>	210	214	202	NS
<b>C18:1 <i>cis</i> 11</b>	16.8 <sup>a</sup>	18.5 <sup>ab</sup>	20.3 <sup>a</sup>	***
<b>C18:2 <i>cis</i> 9 <i>trans</i> 11</b>	1.8 <sup>c</sup>	2.5 <sup>b</sup>	3.9 <sup>a</sup>	***
<b>C18:2</b>	11.6 <sup>d</sup>	14.3 <sup>c</sup>	17.0 <sup>b</sup>	***
<b>C18:3</b>	4.7 <sup>c</sup>	6.6 <sup>c</sup>	10.4 <sup>b</sup>	***
<b>Biohidrogenación, %</b>				
<b>C18:3</b>	95.2 <sup>a</sup>	93.3 <sup>a</sup>	88.5 <sup>b</sup>	***

<sup>ab</sup> Letras diferentes en la misma fila indican diferencias estadísticas significativas \*\*\* P < 0,001  
**RG:** Ryegrass, **TR:** Trébol rojo

En este trabajo los niveles de ALC *cis* 9 *trans* 11 en la grasa láctea incrementaron en 21,6 % cuando las vacas consumieron ensilaje de trébol rojo. El efecto de esta leguminosa se ha relacionado con la presencia de la enzima polifenoloxidasas **PFO**, la cual es particularmente activa en el trébol rojo (Dewhurst *et al.* 2003; Lee *et al.* 2007). Esta actividad se demuestra en la Tabla 3. En este trabajo se seleccionaron dos líneas de trébol rojo, una con alta actividad (23,5 U/g fresco) y otra con baja actividad (5,13 U/g fresco), y se midieron los niveles de lipólisis y biohidrogenación en un sistema *in vitro*.

**Tabla 3.** Grado de lipólisis y biohidrogenación ruminal de ácidos grasos por actividad de la polifenol oxidasa **PFO** en un sistema *in vitro*

Actividad PPO	% Lipólisis
Alta	71,5 <sup>b</sup>
Baja	82,4 <sup>a</sup>
<b>Significancia</b>	***

% Biohidrogenación	Actividad PPO		Significancia
	Alta	baja	
<b>C 18:2</b>	53 <sup>b</sup>	57 <sup>a</sup>	*
<b>C 18:3</b>	65 <sup>b</sup>	74 <sup>a</sup>	**

<sup>ab</sup> Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas; \*\*P<0,01; \*P <0,05.

Otro grupo de metabolitos secundarios a los cuales se atribuyen modificaciones en las poblaciones ruminales y por lo tanto cambios en el patrón de fermentación ruminal que puede incrementar el flujo de precursores parcialmente hidrogenados son los taninos. Los taninos han demostrado tener efecto sobre la disminución de cepas de *Butyrivibrio fibrisolvens*, una de las especies más importantes que biohidrogenan en el rumen, pasando de  $1.1 \times 10^6$  a  $1.1 \times 10^5$  células/mL de fluido ruminal, cuando se cambio de una dieta compuesta por trébol blanco y ryegrass a una dieta con *Lotus corniculatus* (Min, 2002). Otras especies de bacterias también se ven afectadas por la acción de los taninos como se observa en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Cambios en la población de bacterias ruminales asociados a la presencia de taninos en la dieta

Población de bacterias	Ryegrass + Trébol Blanco	<i>Lotus corniculatus</i> 32 g TC kg/MS
	Células/mL de fluido ruminal	
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <sup>ab</sup>	1.1 x 10 <sup>6</sup>	1.1 x 10 <sup>5</sup>
<i>Clostridium proteoclasticum</i> <sup>ab</sup>	1.5 x 10 <sup>8</sup>	2.4 x 10 <sup>7</sup>
<i>Eubacterium sp</i> <sup>ab</sup>	4.6 x 10 <sup>8</sup>	1.1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Streptococcus bovis</i> <sup>ab</sup>	7.1 x 10 <sup>6</sup>	2.5 x 10 <sup>5</sup>

TC: tanino condensado

Letras diferentes en la misma fila difieren estadísticamente (P<0,001)

La incorporación en la dieta de leguminosas taníferas como el *Lotus* ha demostrado tener efecto sobre el contenido de ácidos grasos benéficos en la leche ya que incrementó las concentraciones de C18:2 ω6 y C18:3 ω3. Este hecho evidencia el efecto de los taninos condensados presentes en el *Lotus* sobre la reducción biohidrogenación ruminal de ácidos grasos (Turner *et al.* 2005). Sin embargo, el contenido de ALC *cis* 9 *trans* 11 fue inferior en las vacas que consumieron *Lotus corniculatus* comparado frente a las que consumieron ryegrass (Tabla 5).

Turner *et al.* (2005), propone el uso de leguminosas taníferas como una herramienta potencial para incrementar los compuestos benéficos C18:2 ω6 y C18:3 ω3 en la leche (Turner *et al.* 2005).

**Tabla 5.** Composición de ácidos grasos de la leche de vacas en pastoreo de *Lotus* o Ryegrass

	Pastura		Significancia
	Ryegrass	Lotus	
	mg/g de grasa		
<b>C18:2 <i>cis</i> 9 <i>trans</i> 11</b>	20 <sup>b</sup>	15 <sup>a</sup>	***
<b>C18:1 <i>trans</i>11</b>	53,9 <sup>b</sup>	37,9 <sup>a</sup>	***
<b>C18:2-<math>\omega</math>6</b>	8.6 <sup>b</sup>	11.3 <sup>a</sup>	***
<b>C18:3-<math>\omega</math>3</b>	10.1 <sup>b</sup>	13.7 <sup>a</sup>	***

<sup>ab</sup> Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas; \*\*\*P<0,001.

## 2.7 Conclusiones

En Colombia, se ha evidenciado la gran variación en los contenidos de ALC en la leche, la cual está relacionada de manera importante con las variaciones en la dieta. En los sistemas de producción de leche especializada de la sabana de Bogotá, caracterizadas por el uso de pasturas monocultivo de Kikuyo y Ryegrass no se conoce de manera detallada como las estrategias de manejo del pastoreo tales como la edad de rebrote en las diferentes especies pueden modificar el contenido de ALC en la leche. Es evidente que la asociación de gramíneas y leguminosas genera cambios en la fermentación ruminal relacionado con la presencia de metabolitos secundarios en las leguminosas. Este hecho plantea la posibilidad de desarrollar asociaciones estratégicas para la Sabana de Bogotá, de acuerdo con las condiciones agroecológicas, que permitan hacer una caracterización del perfil de ácidos grasos en las asociaciones, información que no se dispone actualmente, y evaluar como este tipo de pasturas puede modificar el contenido de ácidos grasos en la leche con énfasis en compuestos bioactivos benéficos para la salud humana como lo son los ácidos grasos polinsaturados entre los cuales se encuentra el ALC *cis* 9 *trans*11.

Castro (2004), evaluó la calidad nutricional, asociación y palatabilidad de 6 gramíneas para clima frío, seleccionadas por su adaptación al medio y producción de biomasa en la Unidad de Recursos Genéticos Forrajeros de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá: *Holcus lanatus*, *Bromus catharticus*, *Festuca arundinacea*, *Pennisetum clandestinum* (naturalizado), *Dactylis glomerata* y *P. clandestinum* (control puro), con la leguminosa asociada *L. uliginosus*. Al final de la toma de muestras en campo fue



realizada una prueba de cafetería con novillas (300 kg de peso vivo) a un tiempo de rebrote de 45 días para calcular el Índice de Aceptabilidad Relativa (IAR). Las respuestas en calidad nutricional fueron estadísticamente diferentes para todas las gramíneas asociadas ( $P < 0.01$ ), donde se destacaron por su alto contenido de proteína *P. clandestinum* (naturalizado), *D glomerata* y *F. arundinacea*, en comparación con las otras gramíneas y el testigo puro. *L. uliginosus* en todas las asociaciones presentó buen contenido nutricional, con altos valores de PC (26.5 %) y DIVMS (68.6%) principalmente. Para el IAR, las asociaciones que presentaron los más altos valores fueron de *P. clandestinum* (naturalizado) y *F. Arundinacea*, lo que coincidió con correlaciones positivas altas entre este y la calidad nutricional.

De otro lado, en ensayos controlados de producción y calidad de leche en pasturas asociadas de *Festuca arundinacea* y *Lotus uliginosus* (Castro *et al.* 2008), observó como la inclusión de la leguminosa incrementó la producción de leche y el contenido de proteína frente a la pastura control *Festuca arundinacea* + *Pennisetum clandestinum* (23,2 vs 19,6 L/d y 3,2 vs 2,8% respectivamente). Además esta asociación mostró buena compatibilidad y cobertura vegetal, evidenciando condiciones específicas de adaptación a las condiciones de la Sabana de Bogotá.

Estos elementos se presentan como una oportunidad para evaluar los niveles de ALC en la leche producida en las pasturas adaptadas a la Sabana de Bogotá, y que según la revisión anterior, son especies que tendrían potencial para incrementar los niveles de ALC en la leche y constituir esta zona agroecológica en un nicho de producción de leche con características particulares por la presencia de compuestos benéficos para la salud humana. Las evaluaciones deben iniciar desde el conocimiento de los perfiles de ácidos grasos de las diferentes especies, que permitan construir un conocimiento adicional de la calidad nutricional de las pasturas, para luego incluir factores de manejo como la edad de rebrote y las diferentes asociaciones gramínea-leguminosa y finalizar en la evaluaciones de estos factores sobre el perfil de ácidos grasos de la leche producida bajo estas pasturas.

## 2.8 Bibliografía

**ABUGHAZALEH, A. A. AND JENKINS, T. C. 2004.** Disappearance of Docosahexaenoic and Eicosapentaenoic Acids from Cultures of Mixed Ruminant Microorganisms. *J. Dairy Sci.* 87 (3): 645- 651.

**ADNØY T, HAUG A, SØRHEIM O, THOMASSEN MS, VARSZEGI Z AND EIK LO 2005.** Grazing on mountain pastures – does it affect meat quality in lambs? *Livestock Production Science* 94, 25-31

**AGUILAR, O. X.; G, MORENO M; B. M.; PABÓN R., M. L. y CARULLA F., J. E. 2009.** Efecto del consumo de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) o raigrás (*Lolium hybridum*) sobre la concentración de ácido linoléico conjugado y el perfil de ácidos grasos de la grasa láctea. *Livestock Research for Rural Development*,. In press.

**ALBRECHT KA AND MUCK RE, 1991.** Proteolysis in ensiled forage legumes that vary in tannin concentration. *Crop Sci* 31:464–469

**ALBRECHT KA AND BRODERICK GA, 1992.** Ruminant *in vitro* degradation of protein from different legume species, in *Research Summaries*. US Dairy Forage Research Center, WI, pp. 92–94

**ARO A., MANNISTO S., SALMINEN I., OVASKAINEN M.L., KATAJA V., UUSITUPA M. 2000.** Inverse association between dietary and serum conjugated linoleic acid and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Nutrition and Cancer*, 38, 151–157.

**BAUCHART, D., VÉRITÉ, R. AND REMOND, B. 1984.** Long-chain fatty acid digestion in lactating cows fed fresh grass from spring to autumn. *Can. J. Anim. Sci.* 64 (Suppl.): 330–331.

**BAUMAN DE, CORL BA, PETERSON D G. 2003.** The biology of conjugated linoleic acids in ruminants. En: *Advances in conjugated linoleic acid research vol 2*. AOCS press, Champaign, IL. p. 146-173

**BAUMGARD, L. H., CORL, B. A., DWYER, D. A., SAEBØ, A. & BAUMAN, D. E. 2000.** Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *Am. J. Physiol.* 278: R179–R184. 14. Park, Y., McGuire

**BELURY M.A. 2002.** Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. *Annual Review of Nutrition*, 22, 505–531.

**BENCHAAR, C AND CHOUINARD, P.Y. 2009.** *Short communication:* Assessment of the potential of cinnamaldehyde, condensed tannins, and saponins to modify milk fatty acid composition of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92:3392–3396

**BESSA, R. J. B. SANTOS-SILVA, J. J. RIBEIRO M. R. AND PORTUGA A. V. 2000.** Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livestock Production Science*, Volume 63, Issue 3, 1 May 2000, Pages 201-211

**BLAS BEORLEGUI. C. 2004.** Cambios en el perfil de ácidos grasos en productos animales en relación con la alimentación animal y humana. Importancia de ácido linoleico conjugado. 1. Rumiantes. XX curso de especialización FEDNA. Barcelona 22-23 noviembre. Pag 79-100.

*BOECKAERT CHARLOTTE, VLAEMINCK BRUNO, FIEVEZ VEERLE, MAIGNIEN LOIS, DIJKSTRA JAN, AND BOON NICO. 2008.* Accumulation of *trans* C<sub>18:1</sub> Fatty Acids in the Rumen after Dietary Algal Supplementation Is Associated with Changes in the *Butyrivibrio* Community. Applied and Environmental Microbiology, p. 6923-6930, Vol. 74, No. 22.

**BOUFAÏED, H., P.Y. CHOUINARD, G.F. TREMBLAY, H.V. PETIT, R. MICHAUD, AND G. BÉLANGER. 2003.** Fatty acids in forages. I. Factors affecting concentrations. Can. J. Anim. Sci. 83:501–511.

**CASTRO E; MOJICA JE; LEÓN JM; PABON ML; CARULLA JE. 2008.** Productividad de pasturas y producción de leche bovina bajo pastoreo de gramínea y gramínea + *Lotus uliginosus* en Mosquera, Cundinamarca. Rev. Med. Vet. Zoot. 55:9-21

**CASTRO, E. 2004.** Evaluación de adaptación y compatibilidad de 10 gramíneas para clima frío asociadas a *Lotus corniculatus* en Mosquera, Cundinamarca. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Departamento de Ciencias para la Producción Animal. Bogotá, D. C. 99 p.

**CHIN, S. F., LIU, W., STORKSON, J. M., HA, Y. L. & PARIZA, M. W. 1992.** Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. J. Food Compos. Anal. 5: 185–197.

**CHILLIARD Y., A. FERLAY, M. DOREAU. 2001.** Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cows diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. Livestock Production Science 70 : 31-48.

**CHOUINARD, P.Y., L. CORNEAU, M.L. KELLY, J.M. GRIINARI, Y D.E. BAUMAN 1998.** Effect of dietary manipulation on milk conjugated linoleic acid concentrations. J. Dairy Sci. 81. suppl.1: 233 (Abstr.)

**COOK, M. E., MILLER, C. C., PARK, Y. & PARIZA, M. W. 1993.** Immune modulation by altered nutrient metabolism: nutritional control of immune-induced growth depression. Poultry Sci. 72: 1301–1305.

**COLLOMB. M, SCHMID. A, SIEBER. R, WECHSLER. D, RYHANEN. E.L. 2006.** Conjugated linoleic acid in milk fat: Variation and physiological effects. J. Dairy Sci. 16: 1347 – 1361.

**DE LA FUENTE, L.F.; BARBOSA, E.; CARRIEDO, J.A.; GONZALO, C.; ARENAS, R.; FRESNO, J.M AND F. SAN PRIMITIVO. 2009.** Factors influencing variation of fatty acid content in ovine milk. J. Dairy Sci. 92 :3791–3799

**DEWHURST RJ, FISHER WJ, TWEED J-KS, WILKINS RJ. 2003.** Comparison of grass and legume silages for milk production. 1. Production responses with different levels of concentrate. J Dairy Sci 86:2598 – 2611.

**DEWHURST R.J., KING P.J. 1998.** Effects of extended wilting, shading and chemical additives on the fatty acids in laboratory grass silages. *Grass and Forage Science*, 53, 219–224.

**DEWHURST R.J., SCOLLAN N.D., LEE M.R.F., OUGHAM H.J., HUMPHREYS M.O. 2003A.** Forage breeding and management to increase the beneficial fatty acid content of ruminant products. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62, 329–336.

**DEWHURST, R.J., EVANS, R.T., SCOLLAN, N.D., MOORBY, J.M., MERRY, R.J., AND WILKINS, R.J. 2003B.** Comparison of Grass and Legume Silages for Milk Production. 2. *In vivo* and *in sacco* Evaluations of Rumen Function, *J. Dairy Sci.* 86, 2612–2621.

**DEWHURST. R.J., SHINGFIELD. K.J., LEE. M.R.F., SCOLLAN. N.D. 2006.** Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Animal feed science and technology*. 131:168 – 2006.

**DHIMAN, T. R.; SATTER, L. D.; PARIZA, M. W.; GALLI, M. P.; ALBRIGHT, K., and TOLOSA, M. X.** Conjugated Linoleic Acid (**CLA**) Content of Milk from Cows Offered Diets Rich in Linoleic and Linolenic Acid. *J. Dairy Sci.*, 2000; 83 (5): 1016- 1027.

**DOREAU, MICHEL AND CHILLIARD, YVES 1997.** Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *British Journal of Nutrition*. 78 (01): S15- S35.

**DURMIC, Z.; McSWEENEY, C. S.; KEMP, G. W.; HUTTON, P.; WALLACE, R. J., and VERCOE, P. E. 2008.** Australian plants with potential to inhibit bacteria and processes involved in ruminal biohydrogenation of fatty acids. *Animal Feed Science and Technology*. 145 (1-4): 271- 284.

**ELGERSMA A., ELLEN G., VAN DER HORST H., MUUSE B.G., BOER H., TAMMINGA S. 2003A.** Comparison of the fatty acid composition of fresh and ensiled perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), affected by cultivar and regrowth interval. *Animal Feed Science and Technology*, 108, 191–205.

**ELGERSMA A., TAMMINGA S., ELLEN G. 2003** Comparison of the effects of grazing and zero-grazing of grass on milk fatty acid composition of dairy cows. *Grassland Science in Europe*, 8, 271–274.

**ELGERSMA A., ELLEN G., VAN DER HORST H., MUUSE B.G., BOER H., TAMMINGA S. 2004.** Influence of cultivar and cutting date on fatty acids composition of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Erratum. *Grass and Forage Science*, 59, 104

**ELGERSMA A, S. TAMMINGA, G. ELLEN. 2006.** Modifying milk composition through forage. *Animal Feed Science and Technology* 131 207–225

**FEDELE V, S. CLAPS, R. RUBINO, L. SEPE AND G.F. CIFUNI.** Volatile compounds in herbage intake by goats in two different grazing seasons. *Options Méditerranéennes, Series A, No. 67*

**FERLAY, A.; MARTIN, M., PRADEL, P.H.; COULON, J.B AND Y. CHILLIARD. 2006.** Influence of Grass-Based Diets on Milk Fatty Acid Composition and Milk Lipolytic System in Tarentaise and Montbe´liarde Cow Breeds. *J. Dairy Sci.* 89:4026–4041

FUKUDA, S.; SUZUKI, Y.; MURAI, M.; ASANUMA, N.; HINO, T. 2006. Isolation of a novel strain of *Butyrivibrio fibrisolvens* that isomerizes linoleic acid to conjugated linoleic acid without hydrogenation, and its utilization as a probiotic for animals. [Journal of Applied Microbiology](#), Volume 100, Number 4, pp. 787-794(8)

GAGLIOSTRO, G.A. 2004. Control nutricional del contenido (CLA) en leche y su presencia en alimentos naturales funcionales. *Rev. Arg. Prod. Anim.* Vol 24 N° 3-4: 113-136

**GRIINARI, J. M., CORL, B. A., LACY, S. H., CHOUINARD, P. Y., NURMELA, K. V. & BAUMAN, D. E. 2000.** Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by  $\Delta^9$ -desaturase. *J. Nutr.* 130: 2285–2291.

**HAWKE, J.C.; RUMSBY, M.G AND RACHEL M. LEECH. 1974.** Lipid Biosynthesis in Green Leaves of Developing Maize. *Plant Physiol.* (1974) 53, 555-561

**HAYEK, M. G., HAN, S. N., WU, D., WATKINS, B. A., MEYDANI, M., DORSEY, J. L., SMITH, D. E. & MEYDANI, S. N. 1999.** Dietary conjugated linoleic acid influences the immune response of young and old C57BL/6NCrIBR mice. *J. Nutr.* 129: 32–38.

**HARWOOD, J. L. 1980.** Plant acyl lipids: structure, distribution and analysis. Pages 2–48 in P. K. Stumpf, ed. *The biochemistry of plants*. Vol. 4. Academic Press, New York, NY

**HARFOOT, C. G. AND HAZLEWOOD, G. P. 1988.** Lipid metabolism in the rumen. Pages 285–322 in P. N. Hobson, ed. *The rumen microbial ecosystem*. Elsevier Applied Science, New York, NY.

**HOUSEKNECHT, K. L., VANDEN HEUVEL, J. P., MOYA-CAMARENA, S. Y., PORTOCARRERO, C. P., PECK, L. W., NICKEL, K. P. & BELURY, M. A. 1998.** Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty *fa/fa* rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 244: 678–682

**IP, M. M., MASSO-WELCH, P. A., SHOEMAKER, S. F., SHEA-EATON, W. K. & IP, C. 1999.** Conjugated linoleic acid inhibits proliferation and induces apoptosis of normal rat mammary epithelial cells in primary culture. *Exp. Cell Res.* 250: 22–34.

**JENKINS, T. C.; WALLACE, R. J.; MOATE, P. J., and MOSLEY, E. E. 2008.** Board-Invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J. Anim Sci.* 86 (2): 397- 412.

**KAY, J.K.; MACKLE, T.R.; AULDIST, M.J.; THOMSON, M.A AND BAUMAN, D.E. 2004.** Endogenous Synthesis of *cis*-9, *trans*-11 Conjugated Linoleic Acid in Dairy Cows Fed Fresh Pasture. *J. Dairy Sci.* 87:369–378

**2.1** KELSEY J. A., CORL B. A., COLLIER R. J. AND BAUMAN D. E. 2003. *The Effect of Breed, Parity, and Stage of Lactation on Conjugated Linoleic Acid (CLA) in Milk Fat from Dairy Cows*<sup>1</sup>. *J. Dairy Sci.* 86:2588-2597.

**KHANAL R.C, DHIMAN TR, BOMAN RL. 2007.** Changes in fatty acid composition of milk from lactating dairy cows during transition to and from pasture. *Livestock Science*. Article in press.

**KHANAL R.C. AND OLSON K.C. 2004.** Factors Affecting Conjugated Linoleic Acid (CLA) Content in Milk, Meat, and Egg: A Review. *Pakistan Journal of Nutrition* 3 (2): 82-98.

**2.2** KIM YOUNG JUN, LIU RUI HAI, BOND DANIEL R., AND RUSSELL JAMES B. 2000. Effect of Linoleic Acid Concentration on Conjugated Linoleic Acid Production by *Butyrivibrio fibrisolvens* A38 Applied and Environmental Microbiology. p. 5226-5230, Vol. 66, No. 12

**LEDOUX. M. CHARDIGNY. J.M. DARBOIS. M. SOUSTRE. Y. SÉBÉDIO. J.L. 2005.** Fatty acid composition of France butters, with special emphasis on conjugated linoleic acid (CLA) isomers. *J. Food Compos Anal.* 18: 409-425.

**LEE M R.F; LORNA J PARFITT; NIGEL D SCOLLAN AND FRANK R MINCHIN. 2007.** Lipolysis in red clover with different polyphenol oxidase activities in the presence and absence of rumen fluid. *J Sci Food Agric* 87:1308–1314

**LEE MRF, WINTERS AL, SCOLLAN ND, DEWHURST RJ, THEODOROU MKANDMINCHIN FR, 2004.** Plant-mediated lipolysis and proteolysis in red clover with different polyphenol oxidase activities. *J Sci Food Agric* 84:1639–1645

**LEE MRF, HARRIS LJ, DEWHURST RJ, MERRY RJ AND SCOLLAN ND. 2003.** The effect of clover silages on long chain fatty acid rumen transformations and digestion in beef steers. *Anim Sci* 76:491–501

**LEIBER F, MICHAEL KREUZER, DANIEL NIGG, HANS-RUDOLF WETTSTEIN, AND MARTIN RICHARD LEO SCHEEDER. 2005** A Study on the Causes for the Elevated n-3 Fatty Acids in Cows' Milk of Alpine Origin. *Lipids*, Vol. 40, no. 2.

**LI, Y., SEIFERT, M. F., NEY, D. M., GRAHN, M., GRANT, A. L., ALLEN, K. G., WATKINS, B. A. 1999.** Dietary conjugated linoleic acids alter serum IGF-I and IGF binding protein concentrations and reduce bone formation in rats fed (n-6) or (n-3) fatty acids. *J. Bone Miner. Res.* 14: 1153–1162

**LI, Y. & WATKINS, B. A. 1998.** Conjugated linoleic acids alter bone fatty acid composition and reduce ex vivo prostaglandin E2 biosynthesis in rats fed n-6 or n-3 fatty acids. *Lipids* 33: 417–425.

**LOCK L AND BAUMAN DE. 2004.** Modifying Milk Fat Composition of Dairy Cows to Enhance Fatty Acids Beneficial to Human Health. *Lipids* 39:1197-1206

**LOOR JJ, J. H. HERBEIN, and C. E. POLAN. 2002.** *Trans*18:1 and 18:2 Isomers in Blood Plasma and Milk Fat of Grazing Cows Fed a Grain Supplement Containing Solvent-Extracted or Mechanically Extracted Soybean Meal *J. Dairy Sci.* 85:1197–1207

**LOURENCO M, G. VAN RANST, B. VLAEMINCK, S. DE SMET, V. FIEVEZ. 2008.** Influence of different dietary forages on the fatty acid composition of rumen digesta as well as ruminant meat and milk. *Animal Feed Science and Technology.* 145: 418–437

**MACHEIX JJ, SAPIJ JC AND FLEURIT A, 1991.** Phenolic compounds and polyphenol oxidase in relation to browning grapes and wines. *CRC Rev Food Sci* 30:441–486.

**MIN, B; ATTWOOD, G; REILLY K; SUN, W; PETERS, J; BARRY, T AND MCNABB, W. 2002.** *Lotus corniculatus* condensed tannins decrease in vivo populations of proteolytic bacteria and affect nitrogen metabolism in the rumen of sheep. *Can J Microbiol.* 48 (10): 911-21.

**MIN, B.R., BARRY, T.N., ATTWOOD, G.T., AND MCNABB, W.C. 2003.** The Effect of Condensed Tannins on the Nutrition and Health of Ruminants Fed Fresh Temperate Forages: A Review, *Anim. Feed Sci. Technol.* 106, 3–19

**MOATE, P. J.; BOSTON, R. C.; JENKINS, T. C., AND LEAN, I. J. 2008.** Kinetics of Ruminant Lipolysis of Triacylglycerol and Biohydrogenation of Long-Chain Fatty Acids: New Insights from Old Data. *J. Dairy Sci.* 91 (2): 731- 742.

**MOHAMMED, R.; STANTON, C.S.; KENNELLY, J.J.; KRAMER, J.K.G.; MEE, J.F.; GLIMM, D.R.; O'DONOVAN, M AND MURPHY, J.J. 2009.** Grazing cows are more efficient than zero-grazed and grass silage-fed cows in milk rumenic acid production

**NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1996.** Carcinogens and Anticarcinogens in the Human Diet: A Comparison of Naturally Occurring and Synthetic Substances. National Academy Press, Washington, DC.

**NELSON, K.A.S AND MARTINI, S. 2009.** Increasing omega fatty acid content in cow's milk through diet manipulation: Effect on milk flavor. *J. Dairy Sci.* 92 :1378–1386

**OBSERVATORIO AGROCADENAS. 2006.** Informe de coyuntura; leche, primer trimestre del 2006. [www.agrocadenas.gov.co](http://www.agrocadenas.gov.co)

**O'SHEA, M., DEVERY, R., LAWLESS, F., MURPHY, J. & STANTON, C. 2000.** Milk fat conjugated linoleic acid (CLA) inhibits growth of human mammary MCF-7 cancer cells. *Anticancer Res.* 20: 3591–3601

**OSTROWSKA, E., MURALITHARAN, M., CROSS, R. F., BAUMAN, D. E. & DUNSHEA, F. R. 1999.** Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *J. Nutr.* 129: 2037–2042.

**PARIZA, M.W., HARGREAVES, W.A. 1985.** A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Carcinogenesis* Vol. 6 no.4:591-593.

**PARK, Y., ALBRIGHT, K. J., STORKSON, J. M., LIU, W., COOK, M. E. & PARIZA, M. W. 1999.** Changes in body composition in mice during feeding and withdrawal of conjugated linoleic acid. *Lipids* 34: 243–248.

**QIU, X., M. L. EASTRIDGE, K. E. GRISWOLD, AND J. L. FIRKINS. 2004.** Effects of substrate, passage rate, and pH in continuous culture on flows of conjugated linoleic acid and *trans* C18 :1. *J. Dairy Sci.* 87:3473–3479.

**RICO J.E., MORENO B., PABÓN ML., CARULLA, J. 2007.** Composición de la grasa láctea de la sabana de Bogotá con énfasis en ácido ruménico - CLA cis-9, trans-11.. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 20, 30-39.

**RIBEIRO, C. V. D. M. M. L. EASTRIDGE, J. L. FIRKINS, N. R. ST-PIERRE, AND D. L. PALMQUIST. 2007.** Kinetics of Fatty Acid Biohydrogenation In Vitro. *J. Dairy Sci.* 90: 1405-1416.

**RITZENTHALER K.L., MCGUIRE M.K., FALEN, R., SHULTZ, T.D., DASGUPTA, N AND MCGUIRE M.A. 2001.** Estimation of Conjugated Linoleic Acid Intake by Written Dietary Assessment Methodologies Underestimates Actual Intake Evaluated by Food Duplicate Methodology. *J. Nutr.* 131: 1548–1554.

**ROJAS, C. I.; PABÓN, M. L. AND CARULLA, J. E.** Bioquímica, nutrición y alimentación de la vaca. Capítulo 4: Ácido linoléico conjugado (ALC): Factores dietarios que afectan su contenido en la leche. Medellín: PABÓN, M. L. y OSSA LONDOÑO, J., 2005. 110 p. ISBN 958-337277-3

**SIMOPOULUS A. 2008.** The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. *Experimental Biology and Medicine.* 233:674–688.

**SCHONBERG, S. & KROKAN, H. E. 1995.** The inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives (CLA) of linoleic acid on the growth of human tumor cells lines is in part due to increased lipid peroxidation. *Anticancer Res.* 15: 1241–1246.

**SHULTZ, T. D., CHEW, B. P., SEAMAN W. R. & LUEDECKE, L. O. 1992.** Inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid and b-carotene on the in vitro growth of human cancer cells. *Cancer Lett.* 63: 125–133.

**SLOTS, T.; BUTLER, G.; LEIFERT, C.; KRISTENSEN, K.; SKIBSTED, L.H AND NIELSEN, J.H. 2009.** Potentials to differentiate milk composition by different feeding strategies. *J. Dairy Sci.* 92:2057–2066

**TROEGELER-MEYNADIER, A., M. C. NICOT, C. BAYOURTHE, R. MONCOULON, AND F. ENJALBERT. 2003.** Effects of pH and concentrations of linoleic and linolenic acids on extent and intermediates of ruminal biohydrogenation in vitro. *J. Dairy Sci.* 86:4054–4063.

**TUREK, J. J., LI, Y., SCHOENLEIN, I. A., ALLEN, K.G.D. & WATKINS, B. A. 1998.** Modulation of macrophage cytokine production by conjugated linoleic acids is influenced by the dietary n-6:n-3 fatty acid ratio. *J. Nutr. Biochem.* 9: 258–266.



**TURNER, S.A., WAGHORN, G.C., WOODWARD, S.L., THOMSON, N.A., 2005.** Condensed tannins in birdsfoot refoil (*Lotus corniculatus*) affect the detailed composition of milk from dairy cows. *N.Z. Soc. Anim. Prod.* 65, 283–289.

**TURPEINEN, A.M., MUTANEN, M., ARO, A., SALMINEN, I., BASU, S., PALMQUIST, D.L., GRIINARI, J.M., 2002.** Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 76, 504–510.

**VAN DORLAND, HANS-RUEDIGER WETTSTEIN, GILLES AESCHLIMANN, HANS LEUENBERGER, & MICHAEL KREUZER. 2007.** Preference of dairy cows for ryegrass, white clover and red clover, and its effects on nutrient supply and milk quality. *archives of animal nutrition* 61(5): 371 – 389

**VÁRADYOVÁ, Zora; KIŠIDAYOVÁ, Svetlana; SIROKA, Peter, and JALČ, Dušan. 2008.** Comparison of fatty acid composition of bacterial and protozoal fractions in rumen fluid of sheep fed diet supplemented with sunflower, rapeseed and linseed oils. *Animal Feed Science and Technology.* 144 (1-2): 44- 54.

**VLAEMINCK, B.; MENGISTU, G.; FIEVEZ, V.; DE JONGE, L., and DIJKSTRA, J. 2008.** Effect of In Vitro Docosahexaenoic Acid Supplementation to Marine Algae-Adapted and Unadapted Rumen Inoculum on the Biohydrogenation of Unsaturated Fatty Acids in Freeze-Dried Grass. *J. Dairy Sci.* 91 (3): 1122- 1132.

**WITKOWSKA, I.M.; WEVER, C.; GERRIT GORT, AND ANJO ELGERSMA. 2008** Effects of Nitrogen Rate and Regrowth Interval on Perennial Ryegrass Fatty Acid Content during the Growing Season. *Agronomy Journal* • Volume 100, Issue 5



### **3. Efecto de la incorporación de *Lotus uliginosus* en pasturas de trópico alto sobre el perfil de ácidos grasos de la leche**

efecto de la incorporación de *Lotus uliginosus* en pasturas de trópico alto sobre el perfil de ácidos grasos de la leche

#### **Effect of *Lotus uliginosus* in high tropic pastures on milk fatty acids**

Javier León Caviedes<sup>1</sup>, Mauricio Morales Suarez<sup>1</sup>, Euclides De La Vega Gomez<sup>1</sup>, Martha Pabón Restrepo<sup>1,2</sup>, Edgar Cárdenas Rocha<sup>1,3</sup>, Juan Carulla Fornaguera<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Nutrición Animal, Universidad Nacional de Colombia

<sup>2</sup>Profesora Titular. Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá

<sup>3</sup>Profesor Asociado. Departamento de Producción Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá

#### **3.1 Resumen**

Para determinar el efecto de la incorporación de *Lotus uliginosus* en pasturas de gramíneas *Pennisetum clandestinum* y *Festuca arundinacea* sobre el perfil de ácidos grasos de la leche, se utilizaron 12 vacas Holstein entre 2 a 5 partos y una producción promedio inicial de  $24,3 \pm 2,8$  L/d y  $156 \pm 11$  días en leche **DEL**. Tres vacas fueron asignadas a cada uno de los cuatro tratamientos en un diseño de sobrecambio 4 x 4. La pastura asociada *P. clandestinum* + *L. uliginosus* (**P.c** + **L.u**) presentó el mayor contenido

de proteína cruda (24,9%) y menor de FDN (42,8%) y FDA (21%) comparada con las demás pasturas ( $P < 0,05$ ). La pastura de *P. clandestinum* (**P.c**) presentó la menor digestibilidad *In vitro* (60,9%). El contenido de ácidos grasos en las pasturas fue diferente, se destaca el mayor contenido de C18:3- $\omega$ 3 en la pastura de *F. arundinacea* + *L. uliginosus* (**F.a** + **L.u**) seguido de *F. arundinacea* (**F.a**) 53,6 y 51,8% respectivamente, y el menor contenido fue encontrado en la pastura de *P. clandestinum* 42,3% ( $P < 0,05$ ). Sin embargo, el contenido de C18:2- $\omega$ 6 en esta pastura, fue el más alto (21,6%) con respecto a las demás pasturas evaluadas ( $P < 0,05$ ). La producción de leche fue mayor ( $P < 0,05$ ) en las vacas que consumieron la pastura asociada *P. clandestinum* + *L. uliginosus* (23L/d) y menor en las vacas que consumieron la pastura *F. arundinacea* (17,2 L/d). El contenido de grasa y sólidos totales fue menor ( $P < 0,05$ ) en la leche producida en la pastura *P. clandestinum*. El perfil de ácidos grasos de la leche fue modificado por el tipo de pastura que consumieron las vacas, se encontró mayor contenido de C18:3- $\omega$ 3 y C18:2- $\omega$ 6 (9,4 y 17,8 mg/g de grasa) en la leche producida en la pastura **P.c+L.u** ( $P < 0,001$ ). La leche producida en la pastura **P.c** presentó el mayor contenido de ALC *cis*9 *trans*11 (25,1 mg/g de grasa) así como la mayor relación  $\omega$ 6: $\omega$ 3 (4,7). La menor relación  $\omega$ 6: $\omega$ 3 (2,1) fue encontrada en la leche producida en las pastura **P.c+L.u** ( $P < 0,001$ ).

**Palabras claves:** Biohidrogenación, Lipólisis, Pastoreo, Taninos,

### 3.2 Abstract

The effect of planting the legume *Lotus uliginosus* in the grass pastures of either *Pennisetum clandestinum* or *Festuca arundinacea* over the milk fatty acid profile was studied. Twelve multiparous Holsteín dairy cows with an average milk production of  $24,3 \pm 2,8$  L/d and  $156 \pm 11$  days in milk **DIM** were assigned to a 4 (treatments)\*4 (periods) cross over design. Three cows were assigned to each treatment which consisted in *P. clandestinum* or *F. arundinacea* with or without *L. uliginosus*. Each of the four experimental periods lasted twenty one days where the last seven days were for measurements and fourteen days for adaptation. Fatty acid composition was measured using gas chromatography in samples of pastures and milk. Pasture of *P. clandestinum* with *L. uliginosus* had higher crude protein (24,9%) and lower NDF (42,8%) and ADF (21%) content than others pastures ( $P < 0,05$ ). Pasture of *P. clandestinum* had lower

( $P < 0,01$ ) InVitro digestibility. Fatty acids content were different between pastures, higher ( $P < 0,05$ ) C18:3- $\omega$ 3 contents were found in *F. arundinacea* + *L. uliginosus* (**F.a** + **L.u**) and *F. arundinacea* (**F.a**) 53,6 y 51,8%, and the lowest content was found in *P. clandestinum* pasture (42,3%). However, the C18:2- $\omega$ 6 content was higher ( $P < 0,05$ ) in this pasture. Milk production was higher ( $P < 0,05$ ) in cows grazing associated pasture *P. clandestinum* + *L. uliginosus* (23L/d) and the lowest production was found in cows grazing *F. arundinacea* pasture (17,2L/d). Milk fat and total solids content was lowest ( $P < 0,05$ ) in *P. clandestinum* pasture. Milk fatty acids profile was affected by the type of pasture that cows grazed, higher values ( $P < 0,001$ ) of C18:3- $\omega$ 3 and C18:2- $\omega$ 6 (9,4 and 17,8 mg/g fat) was found in milk produced in *P.clandestinum* + *L. uliginosus* pasture. Milk produced in *P. clandestinum* pasture had higher ( $P < 0,001$ ) content of CLA *cis*9 *trans*11 (25mg/g fat) and higher  $\omega$ 6: $\omega$ 3 (4,7) relation. The lowest relation ( $P < 0,001$ )  $\omega$ 6: $\omega$ 3 (2,1) was found in milk produced in *P.c* + *L.u* pasture.

**Key words:** Biohydrogenation, Grazing, Lipolysis, Tanins

### 3.3 Introducción

La relación entre alimentación y salud humana ha cobrado gran importancia durante los últimos años debido a su impacto en enfermedades de gran atención en la sociedad actual como el cáncer y problemas cardiovasculares. Esta relación ha resultado en la definición de alimentos funcionales. Los alimentos funcionales incluyen a cualquier alimento o componente alimenticio que pueda ofrecer beneficios para la salud más allá de la nutrición básica (International Food Information Council, IFIC 2002). La leche, según un gran número de investigaciones (National Research Council, 1996; Schonberg and Krokan 1995, Shultz *et al.* 1992; Ostrowska *et al.* 1999, Park *et al.* 1999), podría ser un alimento con propiedades benéficas para la salud humana gracias a una matriz compleja de nutrientes en la que se destacan péptidos, vitaminas, minerales y ácidos grasos.

Destacar las propiedades benéficas del consumo de leche se ha constituido en una de las principales estrategias de promoción de consumo adelantadas en diferentes sociedades en vías de desarrollo.

Los sistemas de producción de leche en pastoreo presentan ventajas comparativas frente a los sistemas TMR para la producción de leche rica en compuestos benéficos para la salud humana como el ácido linoleico conjugado ALC, *cis9 trans11* y compuestos  $\omega 3$  y  $\omega 6$  (Ward et al., 2003; Looor et al., 2003). Mohamed *et al.* (2009), mostró como las vacas en pastoreo produjeron más ALC que las vacas estabuladas alimentadas con pasto o ensilajes, este efecto se explicó hasta en un 75% por la variación en el consumo de precursores.

Las estrategias de manejo del pastoreo como la edad y la especie de forraje y la inclusión de leguminosas en las pasturas, son factores claves que modifican el perfil de ácidos grasos de la leche (Collomb *et al.* 2002). Aguilar *et al.* (2009) encontraron mayores contenidos de ALC *cis9 trans11* en la leche de las vacas que consumían *Pennisetum clandestinum* comparado a las que consumían *Lolium perenne*, también encontró mayores contenidos de ALC *cis9 trans11* en la leche cuando las vacas consumieron *P. clandestinum* de 50 días y menor cuando consumieron el mismo forraje de 70 días.

Los ácidos grasos insaturados de la dieta son reducidos rápidamente a ácidos grasos saturados. Este proceso de biohidrogenación requiere de una lipólisis previa de los ácidos grasos. El grado y la velocidad de biohidrogenación de los ácidos grasos dependen de condiciones particulares del medio ruminal (Harfoot y Hazlewood, 1997).

Se ha demostrado un incremento en las proporciones de ALC *cis9 trans11* en leche y grasa intramuscular de los rumiantes alimentados con pasturas de una composición botánica diversa. Este efecto se ha relacionado con incremento en el flujo de ácido vaccénico C18:1 *trans11* desde el rumen el cual es principal precursor de la producción endógena de ALC *cis9 trans11* (Dewhurst *et al.* 2003). Este efecto se ha asociado a la presencia de algunos metabolitos secundarios que se encuentran en las pasturas diversas, y que se sugieren como potenciales modificadores de la biohidrogenación ruminal (Lourenco *et al.*, 2008). La presencia de compuestos secundarios en las plantas tales como polifenoles y terpenoides pueden inhibir los microorganismos que hidrogenan en el rumen. Dentro de estos compuestos, los más estudiados han sido los taninos, los cuales son polifenoles que interfieren con el proceso digestivo a través de la unión a las proteínas y/o reducción de la actividad de los microorganismos ruminales (Priolo *et al.*

2000). Este mecanismo permite disminuir la biohidrogenación ruminal de ácidos grasos (Khiaosa-Ard *et al.* 2009), y así aumentar su contenido en la leche.

Los trabajos en pastoreo con pasturas de una composición botánica diversa son escasos. Sin embargo Turner *et al.* (2005), demostró como las vacas que consumían una leguminosa tanifera como *Lotus corniculatus* vs Ryegrass en pastoreo presentaron mayor contenido de ácido linolénico C18:3- $\omega$ 3 (11 vs 15 mg/g de grasa).

Los sistemas especializados de producción de leche en Colombia se basan en el uso intensivo de praderas de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) dependientes de una alta aplicación de fertilizante nitrogenado, 400 kg N/ha/año. (Carulla *et al.* 1999). Se han buscado nuevas alternativas forrajeras que permitan reducir la aplicación de fertilizantes nitrogenados e incrementar la producción y la calidad de la leche. La leguminosa *Lotus uliginosus* utilizada en pastoreo presenta un contenido de taninos del 5% de la materia seca (Chipatecua *et al.* 2007), y su uso en asociación con kikuyo ha permitido incrementar el volumen de leche y el contenido de proteína láctea (Castro *et al.* 2009). Sin embargo se desconoce el efecto de este tipo de asociaciones sobre el perfil de ácidos grasos de la leche.

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la incorporación de *L. uliginosus* en pasturas de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y *F. arundinacea* sobre el perfil de ácidos grasos de la leche.

### 3.4 Materiales y Métodos

**Localización:** El experimento se llevó a cabo en la finca MEGALECHE, ubicada en el municipio de Facatativá (Cundinamarca), una posición geográfica de 4° 49' 89" latitud norte y 74° 22' 77". La finca se encuentra a 2617 msnm, temperatura promedio 15° con oscilaciones entre -2° a 18°C, la precipitación promedio anual es de 1000 mm/año. El experimento se ejecutó durante los meses de enero a marzo de 2010 durante una de las épocas secas del año, presencia de heladas y temperaturas que alcanzaron los 20°C.

**Metodología experimental:** Se utilizaron 12 vacas de la raza Holstein con un peso promedio de 570  $\pm$  70 kg, número de partos 2 a 5 y una producción promedio inicial de 24,3  $\pm$  2,8 L/d. Al iniciar el experimento las vacas estaban en 156  $\pm$  11 días en leche

**DEL.** Las vacas fueron asignadas al azar a cuatro grupos experimentales en un diseño de sobrecambio de 4x4 (cuatro periodos y cuatro tratamientos). Los tratamientos consistieron en 4 pasturas diferentes las cuales se describen a continuación: *P. clandestinum* (**P.c**); *F. arundinacea* (**F.a**); *P. clandestinum* + *L. uliginosus* (**P.c+L.u**) y *F. arundinacea* + *L. uliginosus* (**F.a+L.u**). Cada periodo experimental fue de 21d con los últimos 7 de medición. El tiempo total de experimentación fue de 84 días, con cuatro periodos consecutivos de 21 días. Las pasturas puras fueron fertilizadas con manejo tradicional de urea a razón de 50 kg/N/ha por pastoreo de 45 días, las pasturas asociadas fueron fertilizadas con 46 kg de P y 18 de kg de N/ha por pastoreo de 45 días.

La oferta de forraje de 45 días de rebrote se ajustó diariamente mediante la estimación de la biomasa forrajera a través de la técnica de cuadrantes de referencia descrita por Haydock y Shaw (1975). Se asignó una oferta diaria de forraje de 20 Kg de MS por vaca correspondientes a 3,5 Kg/100 kg de peso vivo mediante utilización de una cuerda eléctrica. La diferencia entre la producción de biomasa inicial y el remanente luego del pastoreo diario de los animales sirvió para estimar el consumo de materia seca del grupo de tres animales. La estimación de consumo de la pastura se llevo a cabo durante los últimos siete días de cada periodo; adicionalmente, se determinó la composición botánica tanto de la oferta como del residuo. Se suministró alimento balanceado comercial a razón de 4 Kg por animal por día, distribuidos en 2 Kg en cada ordeño AM – PM. La composición de ingredientes y nutrientes alimento balanceado se presenta en la tabla 6.

**Tabla 6.** Composición de ingredientes y nutrientes del alimento balanceado

Ingredientes	%
Maíz grano	29,9
Torta de palmiste	17,4
Torta de soya	13,5
Melaza	12,0
Torta de algodón	12,0
Harina de maíz	9,5
Levadura de cerveza	2,4
Carbonato de calcio	1,9
Mogolla de trigo	1,2
Oxido de magnesio	0,2



Premezcla mineral	0,03
<b>Nutrientes</b>	<b>% de la MS</b>
Materia seca	88
FDN	23,8
FDA	12,2
Proteína	18,5
Extracto etéreo	6,5
<u>Ácidos grasos</u>	<u>% del total AG</u>
C12:0	7,5
C14:0	4,1
C16:0	36,8
C18:0	5,1
C18:1	29,6
C18:2	16,5
C18:3	0,3

**Toma de muestras:** En cada uno de los periodos experimentales se tomaron muestras de leche, forraje y suplemento. Las muestras de leche fueron recolectadas durante los días 19 y 20 de cada periodo. Se tomó una muestra individual (150 ml) en cada uno de los ordeños directamente del botellón previa agitación completa. Al final del día se realizó una mezcla de la muestras proporcional a la producción en cada ordeño. Las muestras de los dos días (19 y 20) fueron mezcladas para conformar una muestra compuesta de dos días. Se separaron dos alícuotas de 200 mL, a una se le adicionó dicromato de potasio y se congeló a -4°C para posterior análisis de proteína cruda. La otra alícuota de 200 ml fue procesada en fresco para la extracción de grasa y análisis de sólidos totales, grasa bruta y nitrógeno ureico en leche.

Las muestras de forraje fueron tomadas los días 17, 18 y 19 de cada periodo mediante la técnica “hand pluck” simulando el pastoreo del animal. Las muestras de los tres días fueron mezcladas para constituir una sola muestra de forraje por periodo. Las muestras fueron secadas mediante horno de aire forzado a 60° por 48 horas para análisis de materia seca, proteína cruda, FDA, FDN, cenizas, y otra muestra liofilizada por 48 horas para análisis de ácidos grasos. Las muestras de suplemento fueron tomadas el día 17,

18, y 19. Una sola muestra compuesta de los tres días fue secada a 60°C por 48h para análisis de materia seca, proteína cruda, FDA, FDN, cenizas y ácidos grasos.

### **Extracción de la grasa en la leche, forraje y suplemento**

La extracción de grasa láctea se realizó a través de modificación a la técnica de separación mecánica descrita por Frank et al (1975) de la siguiente manera: se centrifugaron 50 ml de leche (15 min a 3000 rpm), se retiró la fracción acuosa dejando el sobrenadante al cual se le adicionó leche hasta completar 50 ml. Se repitieron los procesos de centrifugación y de retirado de la fracción acuosa. El sobrenadante fue mezclado con 15 mL de solución detergente (50 g de hexametáfosfato de sodio,  $(\text{NaPO}_3)_6$ , 24 ml de Tritón X-100 -  $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{C}_6\text{H}_4(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$ - disueltos en un litro de agua). La mezcla fue calentada a 60°C y la fracción grasa fue retirada de la parte superior, la grasa se almacenó en viales plásticos a -70°C para posterior análisis de ácidos grasos.

En el forraje liofilizado y suplemento se llevo a cabo la extracción y metilación de los ácidos grasos mediante modificación de la técnica de Garcés y Mancha (1993) y Yamasaki *et al.* (1999). Las muestras secas fueron adicionadas con metanol, tolueno, ácido sulfúrico, N-N dimetilformamida y hexano, la mezcla fue sometida a calentamiento a 80°C en baño maría durante 2 horas. Luego la fase hexánica fue retirada, secada y reconstituida con diclorometano para ser inyectada en el cromatógrafo de gases.

### **Análisis Químicos**

Las muestras de leche fueron analizadas para grasa por el método de Gerber (AOAC-2000.18, 2006a), proteína cruda, método Kjeldahl (AOAC-991.20, 2006a), sólidos totales (AOAC-925.23, 2006a) y cenizas (AOAC-945.46 2006a).

Las muestras de forraje y suplemento fueron analizados para humedad (AOAC-930.15, 2006b), fibra detergente neutro (Van Soest *et al.* 1991), fibra detergente ácido (Van Soest et al., 1991), lignina (Van Soest *et al.* 1991) y proteína cruda-Kjeldahl (AOAC-2001.11, 2006b).

**Cuantificación de ácidos grasos (leche, forrajes y suplementos).** Los ésteres de ácidos grasos metilados (**FAME**, por sus iniciales en inglés) de la grasa de la leche, de los forrajes y los suplementos fueron cuantificados por cromatografía de gases, para lo cual se utilizó un cromatógrafo de gases marca Shimadzu® modelo GC-2014 cap FID columna Rt 2560 (Restek®) columna capilar de 100 m x 0.25 mm x 0.2 μ.

### **Análisis estadístico.**

Se utilizó un diseño de sobrecambio 4(Tratamientos) x 4(Periodos). Para el análisis de resultados se utilizó el programa estadístico SAS (SAS Inst. Inc., Cary,NC, USA) procedimiento PROC MIXED, para los casos en que fuera necesaria la comparación de medias se llevó a cabo la prueba de TUKEY.

$$Y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \beta_k + \text{SUB}(\beta)_{jk} + \delta_k + \varepsilon_{ijkl}$$

$Y_{ijkl}$  = Observación del  $j$ -ésima vaca, en la  $i$ -ésima pastura, en el orden de pastoreo  $k$  y en el periodo  $l$

$\mu$  = Promedio general

$\tau_i$  = Efecto fijo de la pastura  $i$  ( $i = 1$  a  $4$ )

$\beta_k$  = Efecto del orden de pastoreo  $k$  ( $k = 1$  a  $4$ )

$\text{SUB}(\beta)_{jk}$  = Efecto al azar de la vaca  $j$  en el orden  $k$  ( $J = 1$  a  $12$ )

$\delta_k$  = Efecto del periodo  $l$  ( $l = 1$  a  $4$ )

$\varepsilon_{ijkl}$  = Error aleatorio

## **3.5 Resultados y Discusión**

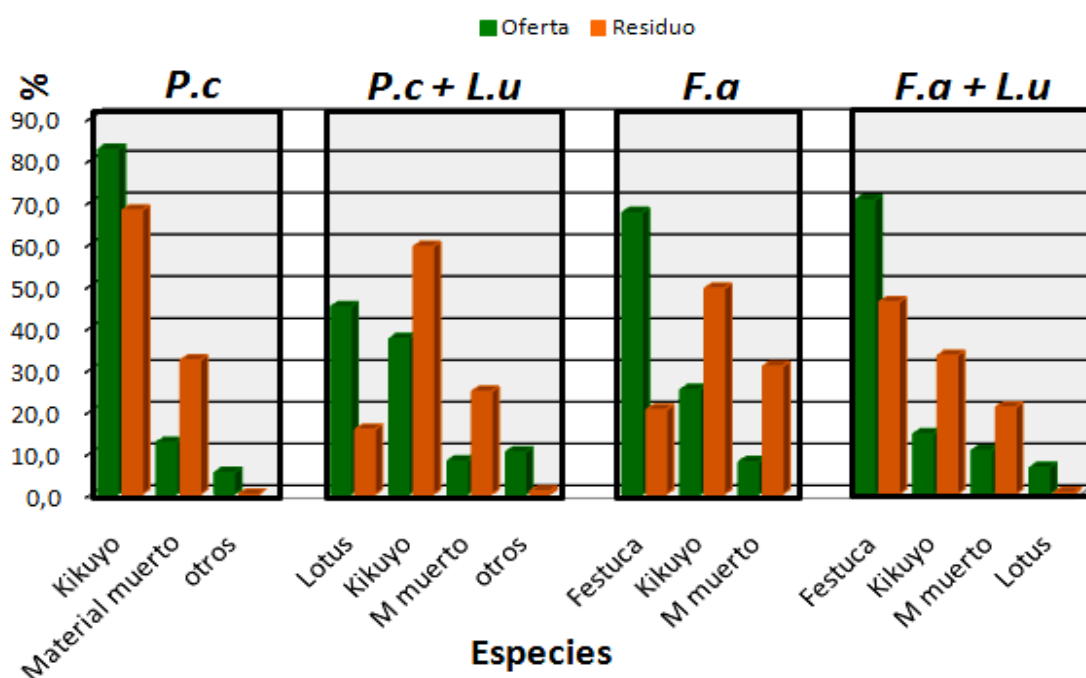
### **Composición botánica de las pasturas**

La pastura *P.c* + *L.u* presentó una alta proporción de la leguminosa *Lotus* (43%) en asociación con *P. clandestinum*. Las condiciones generales de esta pastura fueron una buena cobertura y producción de biomasa. La composición botánica del residuo estuvo dominado por *P. clandestinum* (58%) y material muerto (22%) mostrando una preferencia de las vacas por el consumo de *L. uliginosus* (Grafica 2).

La pastura *F.a + L.u*, estuvo dominada por la gramíneas *F. arundinacea* (70%) y *P. clandestinum* (12%), no se logro un buen establecimiento de *L. uliginosus*, este hecho se evidencia en la mínima participación de esta leguminosa en la composición botánica (Grafica 2). Por tal motivo no se puede hacer una comparación del efecto de la leguminosa en dos pasturas diferentes de gramíneas, pues solo se logro una buena proporción de *L. uliginosus*, en la pastura con *P. clandestinum*. Por lo tanto, cada pastura será evaluada de manera independiente de acuerdo con sus características propias de composición botánica y calidad nutricional.

La pastura pura *P.c* estuvo dominada, como fue planeado, por la gramínea *P. clandestinum*, tuvo presencia de materia muerta y una baja proporción de otras especies principalmente *Rumex spp* (Grafica 2).

La pastura pura *F.a*, presentó una composición promedio de 65% de *F. arundinacea* y 25% de *P. clandestinum*, lo cual indica una participación importante de una segunda especie de gramínea dentro de la pastura. El análisis de la composición del residuo evidencia que las vacas seleccionaron principalmente *F. arundinacea* sobre *P.*



*clandestinum* (Grafica 2).

**Grafica 2.** Composición botánica de la oferta y el residuo en cada una de las pasturas evaluadas.

De acuerdo a la composición botánica de la oferta y el residuo presentado en la Grafica 2, se construyó la Tabla 7 para describir el consumo individual de las diferentes especies presentes en cada pastura. Las vacas en la pastura pura de *P. clandestinum* presentaron un consumo predominante de esta gramínea con una participación mínima de algunas especies principalmente del genero *Rumex spp* (Tabla 7).

En la pastura *P.c + L.u* el mayor consumo fue de la leguminosa *L. uliginosus* seguido de la gramínea *P. clandestinum* y una participación menor pero importante de otras especies principalmente de otras leguminosas como *Trifolium repens* y *T. pratense* así como *Rumex spp*. Este comportamiento variado del consumo se explica por una mayor diversidad botánica en esta pastura, lo que posibilita una mayor selección de especies por parte de las vacas.

En la pastura pura de *F.a* se presentó un consumo predominante de esta gramínea seguido con una participación mínima de la gramínea *P. clandestinum*. En esta pastura las vacas presentaron una mayor selección por *F. arundinacea* comparada con *P. clandestinum*.

En la pastura *F.a + L.u* el consumo mayoritario fue de la gramínea *F. arundinacea*. Sin embargo, a pesar de que la participación de *L. uliginosus* fue mínima en la composición botánica de la pastura, se presentó una selección importante sobre esta leguminosa lo que se reflejó en la segunda especie consumida en esta pastura (Tabla 7).

**Tabla 7.** Descripción del consumo de materia seca de cada una de las diferentes especies presentes en cada pastura

Pastura <sup>1</sup>							
<i>P.c</i>		<i>P.c + Lu</i>		<i>F.a</i>		<i>F.a + L.u</i>	
Kg MS/vaca/día							
<i>P. clandestinum</i>	12,2	<i>L. uliginosus</i>	8,3	<i>F. arundinacea</i>	11,1	<i>F. arundinacea</i>	10,8
Otros	0,4	<i>P. clandestinum</i>	4,0	<i>P. clandestinum</i>	0,7	<i>L. uliginosus</i>	1,4
Material muerto	0	Otros	2,0	Material muerto	0	<i>P. clandestinum</i>	0,3
		Material muerto	0			Material muerto	0
<b>Total</b>	<b>12,6</b>		<b>14,4</b>		<b>11,8</b>		<b>12,5</b>

<sup>1</sup>*P.c*: *Pennisetum clandestinum*; *P.c + L.u*: *Pennisetum clandestinum* + *Lotus uliginosus*; *F.a*: *Festuca arundinacea*; *F.a + L.u*: *Festuca arundinacea* + *Lotus uliginosus*

La composición de nutrientes de las pasturas fue similar con excepción de la pastura de *P.c + L.u.* Para esta pastura el contenido de materia seca, FDN y FDA, fue más bajo ( $P<0,01$ ) y el de PC más alto ( $P<0,05$ ) con respecto a las demás pasturas evaluadas. La Tabla 8 evidencia que la pastura *P.clandestinum* presentó la menor digestibilidad InVtro de la materia seca (60,9%).

**Tabla 8.** Calidad nutricional de las pasturas

	Pastura <sup>1</sup>				SEM	Significancia
	<i>P.c</i>	<i>P.c + L.u</i>	<i>F.a</i>	<i>F.a + L.u</i>		
MS, %	23,0 <sup>a</sup>	16,1 <sup>b</sup>	25,4 <sup>a</sup>	26,0 <sup>a</sup>	5,2	**
PC, %	19,9 <sup>b</sup>	24,9 <sup>a</sup>	20,6 <sup>b</sup>	20,1 <sup>b</sup>	4,2	*
FDN, %	62,2 <sup>a</sup>	42,8 <sup>b</sup>	57,6 <sup>a</sup>	56,5 <sup>a</sup>	7,33	***
FDA, %	25,4 <sup>a</sup>	21,0 <sup>b</sup>	24,9 <sup>a</sup>	25,3 <sup>a</sup>	2,55	**
EE, %	2,9	2,8	3,0	3,4	0,5	NS
DIVMS, %	60,9 <sup>b</sup>	66,0 <sup>a</sup>	66,1 <sup>a</sup>	66,0 <sup>a</sup>	3,8	**

<sup>ab</sup> Letras diferentes en la mis fila indican diferencias estadística significativas \*\*\* $P< 0,001$ ; \*\* $P<0,01$ ; \*  $P<0,05$ ; NS no significativo.

<sup>1</sup>*P.c*: *Pennisetum clandestinum*; *P.c + L.u*: *Pennisetum clandestinum + Lotus uliginosus*; *F.a*: *Festuca arundinacea*; *F.a + L.u*: *Festuca arundinacea + Lotus uliginosus*

Dierking *et al.* (2010) reportó valores de 50,9% de FDN y 16,4% de PC en pasturas de *Festuca alta* (*F. arundinacea*), estos valores fueron diferentes a los encontrados en este trabajo 57,6% y 20,6% respectivamente. En el mismo trabajo, se encontró que la incorporación de la leguminosa (*Medicago sativa*) en las pastura de *Festuca* redujo en un 24% el contenido de FDN e incrementó en un 30% el contenido de proteína cruda. La pastura *P.c + L.u* presentó el mayor contenido de proteína ( $P<0,05$ ) y menor contenido de FDN Y FDA comparado con las demás pasturas ( $P<0,01$ ). No se presentaron diferencias en el contenido de extracto etéreo entre las diferentes pasturas (Tabla 8).

### **Contenido de ácidos grasos de las pasturas**

El contenido de ácido palmítico C16:0, linoleico C18:2- $\omega$ 6 y linolenico C18:3- $\omega$ 3 de las pasturas evaluadas representaron cerca del 88% del total de ácidos grasos (Tabla 9). De estos ácidos grasos la mayor proporción fue la del ácido linolenico C18:3- $\omega$ 3 que representó más del 40% de los ácidos grasos presentes en las pasturas y donde los valores inferiores se presentaron en las pasturas de **P.c** y **P.c + L.u** (Tabla 9). Estas mismas pasturas, presentaron los valores más altos de ácido linoleico C18:2- $\omega$ 6, de esta manera, el conjunto de ácidos grasos poliinsaturados en las cuatro pasturas fue similar aunque la proporción de linolenico C18:3- $\omega$ 3 fue superior en las pasturas con *Festuca*. Por último, las concentraciones de palmítico C16:0 fueron superiores para las pasturas con mayor proporción de Kikuyo ( $P < 0,05$ ).

La mayor participación de ácido palmítico C16:0, linoleico C18:2- $\omega$ 6 y linolenico C18:3- $\omega$ 3 encontrados en este estudio está de acuerdo con otros reportes como los de Boufaied *et al.* (2003), quienes encontraron la misma participación de los tres ácidos grasos en un conjunto de diferentes especies y cultivares evaluados. Valores similares a los reportados aquí para las especies estudiadas han sido reportadas por Aguilar *et al.* (2009) en kikuyo y Dierking *et al.* (2010) en *Festuca*, aunque los valores absolutos de estos ácidos en los forrajes parecen estar influenciados no solo por la especie sino también por la edad de los forrajes (Aguilar *et al.* 2009).

La introducción de leguminosas en el perfil de ácidos grasos en las pasturas ha sido poco estudiada y su impacto sobre el perfil seguramente está asociado al tipo de leguminosa. Boufaied *et al.* (2003) compararon el perfil de ácidos grasos de especies particulares de gramíneas y leguminosas. Los géneros de gramíneas fueron *Festuca*, *Lolium*, *Phleum*, y *Bromus*. Las leguminosas evaluadas fueron *Trifolium pratense* y *repens*, y *Medicago sativa*. Se presentaron diferencias entre gramíneas y leguminosas para cada uno de los ácidos grasos evaluados, las gramíneas presentaron mayor contenido de C18:3- $\omega$ 3 y menor de C18:2- $\omega$ 6 y C16:0. Dentro de las gramíneas, el Ryegrass presenta menor contenido de C16:0 y C18:2- $\omega$ 6 y mayor contenido de C18:3- $\omega$ 3 frente a las demás gramíneas. Dentro de las leguminosas no se presentaron diferencias en el contenido de C16:0 entre *Trifolium pratense* vs *Medicago sativa*, pero el contenido de C18:2- $\omega$ 6 y C18:3- $\omega$ 3 fue mayor para *Trifolium pratense* (Boufaied *et al.* 2003)

Dierking *et al.* (2010) en pasturas mezcladas, donde *Medicago sativa* represento el 38% de la composición botánica dentro de una pastura de *Festuca* encontró un incremento en el contenido de C18:2- $\omega$ 6 y C16:0, y ningún efecto sobre C18:3- $\omega$ 3 comparado con las pastura pura de *Festuca*.

En el presente trabajo, la pastura **P.c + L.u** presentó menor contenido ( $P < 0,001$ ) de C18:2- $\omega$ 6 con respecto a la pastura pura de **P.c** (Tabla 9). No se encontraron diferencias entre la pastura **F.a** vs **F.a+L.u** debido a la baja proporción de la leguminosa dentro de esta pastura. Este comportamiento evidencia que los cambios en el perfil de ácidos grasos de la pastura son dependientes de las especies de gramíneas y leguminosas presentes y de la proporción de cada una dentro de la pastura evaluada.

La pastura de *Festuca* presentó el contenido más alto de C18:3- $\omega$ 3 ( $P < 0,01$ ) y está de acuerdo con Lourenco *et al.* (2007), quien reportó este mismo comportamiento en una pastura con un 70% *Lolium perenne* frente a una pastura con un 60% de las leguminosas *Trifolium repens* y *Medicago sativa*. La ruta fotosintética C3 que comparten las gramíneas *F. arundinacea* y *L. perenne* permite establecer esta comparación. Aunque las especies de leguminosas utilizadas en el estudio de Lourenco *et al.* (2007), no son las mismas a las utilizadas en el presente estudio, el compartimiento de los ácidos grasos fue similar. El contenido de C18:2- $\omega$ 6 y C16:0 fue mayor y C18:3- $\omega$ 3 menor en las pasturas con leguminosas frente a las pasturas con *Festuca*.

La pastura **P.c** presentó mayores contenidos de C16:0 y C18:2- $\omega$ 6 pero menor contenido de C18:3- $\omega$ 3 comparado con las demás pasturas evaluadas (Tabla 9). Las evaluaciones con esta pastura C4 son escasas, sin embargo los resultados en el presente estudio evidencian un comportamiento diferencial de los ácidos grasos frente a pasturas con gramíneas C3 y leguminosas.



**Tabla 9.** Perfil de ácidos grasos de la pasturas

Acido graso	Pastura <sup>1</sup>				SEM	Significancia
	<i>P.c</i>	<i>P.c + L.u</i>	<i>F.a</i>	<i>F.a + L.u</i>		
	% del total de ácidos grasos					
<b>C12:0</b>	3,98	3,52	4,42	3,37	0,004	NS
<b>C14:0</b>	0,54	0,37	0,5	0,49	0,0001	NS
<b>C16:0</b>	25,4 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>	21,9 <sup>b</sup>	21,3 <sup>b</sup>	0,04	*
<b>C18:0</b>	3,3	2,6	3,3	3,6	0,01	NS
<b>C18:1-<math>\omega</math>9</b>	3,31	3,73	4,36	3,65	0,008	NS
<b>C18:2-<math>\omega</math>6</b>	21,6 <sup>a</sup>	15,58 <sup>b</sup>	13,73 <sup>c</sup>	13,91 <sup>c</sup>	0,009	***
<b>C18:3-<math>\omega</math>3</b>	42,3 <sup>b</sup>	48,1 <sup>ab</sup>	51,8 <sup>a</sup>	53,6 <sup>a</sup>	0,12	**
<b>AGPI</b>	63,4	64,7	65,5	67,5	0,11	NS

<sup>ab</sup> Letras diferentes en la mis fila indican diferencias estadística significativas \*\*\*P< 0,001; \*\*P<0,01; \* P<0,05; NS no significativo.

<sup>1</sup>*P.c*: *Pennisetum clandestinum*; *P.c + L.u*: *Pennisetum clandestinum + Lotus uliginosus*; *F.a*: *Festuca arundinacea*; *F.a + L.u*: *Festuca arundinacea + Lotus uliginosus*

### **Consumo de materia seca, Producción y Calidad de la leche**

Las vacas en las pastura *P.c + L.u* presentaron un consumo superior de materia seca comparado con las vacas en las demás pasturas (P<0,001). La mayor diferencia en el consumo de forraje se presentó entre *P.c + L.u* y *F.a*. Una diferencia promedio de 2,6 kg de forraje/vaca/día fue encontrado a favor de *P.c + L.u*. Esta diferencia se vio reflejada en la producción de leche superior en la pastura *P.c + L.u* (Tabla 10). El contenido de grasa y sólidos totales en la leche de las vacas fue similar entre *F.a*, *F.a+L.u* y *Pc + Lu*, y fue menor en *P.c* P<0,05 (Tabla 10). Un incremento similar en la producción de leche fue reportado por Turner et al. (2005), cuando compararon la producción y la calidad de la leche obtenida en pasturas de *Lotus* vs Ryegrass. Estos autores no encontraron diferencias en los parámetros de la calidad de la leche en las vacas alimentadas con *Lotus* como si se encontró en el presente trabajo. El contenido de proteína cruda fue más bajo en la leche producida en la pastura *P.c + L.u* (P<0,001), sin embargo, el contenido de caseína fue más alto comparado con la leche producida en las demás pasturas (P<0,05). El contenido de grasa láctea en las vacas que consumieron la pastura *P.c* fue menor al encontrado en las demás pasturas pero es comparable con los valores obtenidos en otros trabajos en Colombia en los cuales se utilizó kikuyo puro y los valores de grasa láctea fueron 3,5% (Mojica et al. 2009), 3,5% (Castro et al. 2009), 3,5% (Aguilar et al. 2009).

**Tabla 10.** Consumo de materia seca producción y composición de la leche

Pastura <sup>1</sup>						
	<i>P.c</i>	<i>P.c + L.u</i>	<i>F.a</i>	<i>F.a + L.u</i>	SEM	Significancia
MS forraje, Kg/vaca/d	12,6 <sup>b</sup>	14,4 <sup>a</sup>	11,8 <sup>c</sup>	12,5 <sup>b</sup>	6,2	***
Leche, L/d	17,9 <sup>bc</sup>	23 <sup>a</sup>	17,2 <sup>c</sup>	18,3 <sup>b</sup>	1,5	*
Proteína, %	2,74 <sup>a</sup>	2,64 <sup>b</sup>	2,71 <sup>a</sup>	2,76 <sup>a</sup>	0,08	***
Caseína, %	1,73 <sup>b</sup>	1,94 <sup>a</sup>	1,75 <sup>b</sup>	1,83 <sup>b</sup>	0,1	*
Grasa, %	3,4 <sup>b</sup>	3,6 <sup>a</sup>	3,7 <sup>a</sup>	3,6 <sup>a</sup>	0,05	*
Sólidos totales, %	12,0 <sup>b</sup>	12,39 <sup>a</sup>	12,41 <sup>a</sup>	12,19 <sup>ab</sup>	0,13	*

<sup>ab</sup> Letras diferentes en la mis fila indican diferencias estadística significativas \*\*\*P< 0,001; \*P<0,05; NS no significativo.

<sup>1</sup>*P.c*: *Pennisetum clandestinum*; *P.c + L.u*: *Pennisetum clandestinum* + *Lotus uliginosus*; *F.a*: *Festuca arundinacea*; *F.a + L.u*: *Festuca arundinacea* + *Lotus uliginosus*

### Perfil de ácidos grasos de la leche

Se presentaron diferencias en el perfil de ácidos grasos de la leche por efecto de las diferentes pasturas (Tabla 11). El contenido de ácidos grasos de cadena corta C6:0, C8:0, y C10:0 fue más alto en la leche producida en la pastura *P.c + L.u* (P<0,05), valores intermedios fueron encontrados en *F.a* y *F.a + L.u* y los valores más bajos en *P.c*. Turner *et al* (2005), no encontró efecto sobre los ácidos grasos C6:0 y C8:0, pero si se reportó un aumento en el contenido de C10:0 cuando las vacas consumieron una pastura con *Lotus* como en el presente trabajo.

La leche y carne producida en pastoreo se caracteriza por tener mayores contenidos de ácidos grasos de la serie ω3 y ácido linoleico conjugado comparativamente a los sistemas de alimentación con forrajes conservados y granos (French *et al.* 2000). Sin embargo, pocos trabajos se han adelantado sobre el efecto que tienen diferentes especies de forrajes y en especial la incorporación de leguminosas en pasturas de gramíneas.

Turner *et al.* (2005) encontraron un aumento en los ácidos grasos de cadena media C12:0 y C14:0 en la leche cuando las vacas consumieron Lotus vs Ryegrass, un efecto similar fue encontrado en este trabajo en la pastura *P.c + L.u* para C12:0 pero no en C14:0, en el cual no se encontraron diferencias. De otro lado Lorenco *et al.* (2007), no encontraron efecto sobre la concentración de C12:0 pero si una disminución de C14:0 en

la grasa corporal de corderos que consumieron una pastura con *Trifolium repens* y *Medicago sativa*.

Desde el punto de vista de salud humana se ha generado gran interés en el contenido de ácido linoleico C18:2- $\omega$ 6, linolénico C18:3- $\omega$ 6 y ácido linoleico conjugado C18:2 *cis*9, *tran*11. El ácido linoleico conjugado fue mayor en la leche cuando consumieron la pastura **P.c** intermedio en **P.c + L.u**, y los valores más bajos fueron encontrados en **F.a** y **F.a + L.u** ( $P < 0,001$ ).

Se presentaron diferencias entre las especies de gramíneas, indicando que existe un mayor efecto del contenido de ácido linoleico en la pastura sobre el contenido de ALC en la leche pues estos valores fueron superiores en la pastura **P.c**. Los ácidos grasos linoleico y linolénico C18:2- $\omega$ 6 y C18:3- $\omega$ 3 fueron superiores ( $P < 0,001$ ) en la leche producida en **P.c + L.u**, adicionalmente se mejoró la relación entre estos dos ácidos grasos, que de acuerdo con las recomendaciones de Simopoulos (2002) se busca una relación 2:1 entre estos dos ácidos grasos y se sugirió como un nivel adecuado para la salud humana. El aumento de ácidos grasos  $\omega$ 6 y  $\omega$ 3, junto con una menor relación entre los dos, evidencia posibles cambios en la biohidrogenación ruminal que permiten incrementar el contenido de este tipo de ácidos grasos benéficos en la leche. Estos efectos se logran bajo pasturas que presentan una composición botánica diversa (Lourenco *et al.* 2007)

El incremento en los contenidos de C18:3- $\omega$ 3 y C18:2- $\omega$ 6 en la leche de las vacas que consumieron la pastura **P.c + L.u** y debido a que esta pastura no presentó los valores más altos de los precursores C18:3 y C18:2, permite plantear que existe una modificación de la biohidrogenación ruminal. Lourenco *et al.* (2008), discute sobre las diferencias en relación a los cambios en la digesta ruminal y duodenal, los cuales incrementan los contenidos de C18:3- $\omega$ 3 en leche y grasa intramuscular debido a la alimentación con trébol rojo o blanco y pasturas diversas, sin embargo estos incrementos no se deben a un incremento en la oferta de ácido linolénico C18:3- $\omega$ 3 sino a un efecto sobre la fermentación ruminal.

Las explicaciones recaen sobre el incremento en el flujo de C18:3- $\omega$ 3 desde el rumen debido a la disminución en la lipólisis ruminal y posterior biohidrogenación. Min *et al.* (2002), encontraron una disminución significativa en cepas de *Butyrivibrio fibrisolvens*, en animales que pasaron de consumir una pastura compuesta por Ryegrass y trébol blanco

a una compuesta por *Lotus*. Esto permite evidenciar una disminución de la biohidrogenación de ácidos grasos debido a la relación directa que existe entre estas cepas de microorganismos y este proceso.

**Tabla 11.** Composición de la grasa láctea

	Pastura <sup>1</sup>				SEM	Significancia
	<i>Pc</i>	<i>Pc + Lu</i>	<i>Fa</i>	<i>Fa + Lu</i>		
	<b>mg/g de grasa</b>					
<b>C6:0</b>	12,4 <sup>b</sup>	15,4 <sup>a</sup>	14,4 <sup>a</sup>	15,3 <sup>a</sup>	0,26	**
<b>C8:0</b>	7,4 <sup>b</sup>	9,1 <sup>a</sup>	8,2 <sup>ab</sup>	9,1 <sup>a</sup>	0,11	**
<b>C10:0</b>	15,6 <sup>b</sup>	18,6 <sup>a</sup>	16,9 <sup>ab</sup>	18,7 <sup>a</sup>	0,61	*
<b>C11:0</b>	2,0 <sup>b</sup>	2,3 <sup>ab</sup>	2,2 <sup>ab</sup>	2,5 <sup>a</sup>	0,02	NS
<b>C12:0</b>	22,9 <sup>b</sup>	26,0 <sup>a</sup>	24,6 <sup>ab</sup>	26,1 <sup>a</sup>	0,73	*
<b>C13:0</b>	0,94 <sup>a</sup>	0,87 <sup>a</sup>	0,67 <sup>b</sup>	0,81 <sup>ab</sup>	0,04	*
<b>C14:0</b>	95,2	99	95,4	100,7	5,4	NS
<b>C14:1</b>	10,3	8,8	8,8	9,2	0,42	NS
<b>C15:0</b>	13,0 <sup>a</sup>	11,2 <sup>b</sup>	11,5 <sup>b</sup>	11,6 <sup>b</sup>	0,09	***
<b>C16:1</b>	14,6 <sup>a</sup>	12,4 <sup>ab</sup>	12,7 <sup>ab</sup>	12,3 <sup>b</sup>	0,64	*
<b>C17:0</b>	6,5 <sup>a</sup>	5,9 <sup>c</sup>	6,2 <sup>b</sup>	6,3 <sup>ab</sup>	0,008	***
<b>Transvaccenico</b>	48,7 <sup>a</sup>	40,3 <sup>ab</sup>	29,7 <sup>bc</sup>	26,9 <sup>c</sup>	22,7	**
<b>Vaccenico-<math>\omega</math>9</b>	4,1 <sup>a</sup>	3,9 <sup>ab</sup>	3,6 <sup>b</sup>	3,5 <sup>b</sup>	0,03	*
<b>C18:2-<math>\omega</math>6</b>	15,3 <sup>b</sup>	17,8 <sup>a</sup>	13,9 <sup>c</sup>	13,8 <sup>c</sup>	0,12	***
<b>C18:3-<math>\omega</math>3</b>	3,2 <sup>b</sup>	9,4 <sup>a</sup>	3,8 <sup>b</sup>	3,9 <sup>b</sup>	0,18	***
<b>ALC <i>cis</i>9 <i>trans</i>11</b>	25,1 <sup>a</sup>	17,1 <sup>b</sup>	13,3 <sup>c</sup>	12,4 <sup>c</sup>	7,6	**
<b>C16:0</b>	276	278	279	282	12,0	NS
<b>C18:0</b>	116,4 <sup>b</sup>	131,5 <sup>a</sup>	133,2 <sup>a</sup>	133,6 <sup>a</sup>	27,1	*
<b>C18:1-<math>\omega</math>9</b>	242 <sup>ab</sup>	228 <sup>b</sup>	261 <sup>a</sup>	252 <sup>a</sup>	22,1	*
<b>Saturados</b>	566 <sup>b</sup>	597 <sup>a</sup>	592 <sup>a</sup>	606 <sup>a</sup>	43,6	**
<b>Insaturados</b>	364 <sup>a</sup>	337 <sup>b</sup>	346 <sup>b</sup>	335 <sup>b</sup>	32,2	**
<b>Relación <math>\omega</math>6/<math>\omega</math>3</b>	4,7 <sup>a</sup>	2,1 <sup>c</sup>	3,7 <sup>b</sup>	3,7 <sup>b</sup>	0,03	***

<sup>ab</sup> Letras diferentes en la mis fila indican diferencias estadística significativas \*\*\*P< 0,001; \*P<0,05; NS no significativo.

<sup>1</sup>**P.c:** *Pennisetum clandestinum*; **P.c + L.u:** *Pennisetum clandestinum* + *Lotus uliginosus*; **F.a:** *Festuca arundinacea*; **F.a + L.u:** *Festuca arundinacea* + *Lotus uliginosus*

### 3.6 Conclusiones

La existencia de una pastura con una composición botánica diversa como *P.clandestinum* + *L.uliginosus* reflejó modificaciones en el perfil de ácidos grasos de la leche incrementando el contenido de ácido linoleico- $\omega$ 6 y linolenico- $\omega$ 3. Sin embargo, los contenidos de ácido linoleico conjugado ALC *cis*9 *trans*11 fueron mayores en la pastura pura de kikuyo. El incremento en los contenidos de ácido linoleico- $\omega$ 6 y linolenico- $\omega$ 3 refleja el posible efecto de los taninos presentes en el *Lotus* los cuales tienen la capacidad de disminuir la biohidrogenación ruminal y permitir que una mayor cantidad de ácidos grasos insaturados provenientes de la dieta se incorporen en la leche. Los niveles de ALC *cis*9 *trans*11 y ácidos grasos insaturados fueron superiores a los reportados en la literatura, destacándose el promedio de 25 mg/g de grasa de ALC *cis*9 *trans*11 encontrado cuando las vacas consumen kikuyo puro.

La leche producida en las pasturas *F.a* + *L.u* y *F.a* presentaron los valores más bajos de ALC *cis*9 *trans* 11 y ácido linoleico- $\omega$ 6 y linolenico- $\omega$ 3. Teniendo en cuenta que estas dos pasturas presentaron los contenidos más altos de C18:3- $\omega$ 3 comparativamente frente a las demás pasturas, posiblemente existió un mayor grado de biohidrogenación ruminal reflejado en los mayores contenidos de C18:0 en la leche. Desde el punto de vista de salud humana, la leche obtenida en estas pasturas no presenta características diferenciales que le puedan generar un valor agregado a la leche producida en estas pasturas.

Se destaca el perfil de ácidos grasos de la leche obtenida de las pasturas con una composición botánica diversa y con la presencia de leguminosas no solo porque mejoran el perfil de ácidos grasos de la leche sino por el incremento en producción de leche y la disminución del uso de fertilizantes nitrogenados.

### 3.7 Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural MADR por proporcionar los recursos financieros necesarios para llevar a cabo esta investigación. Al programa Jóvenes Investigadores “Virginia Gutiérrez de Pineda” de

COLCIENCIAS, Así mismo al laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad nacional de Colombia por facilitar sus instalaciones para el desarrollo de los análisis.

### 3.8 Bibliografía

**AGUILAR, O. X.; G, MORENO M; B. M.; PABÓN R., M. L. y CARULLA F., J. E. 2009.** Efecto del consumo de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) o raigrás (*Lolium hybridum*) sobre la concentración de ácido linoléico conjugado y el perfil de ácidos grasos de la grasa láctea. Livestock Research for Rural Development,. In press.

**ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 2006a.** Official Methods of Analysis of AOAC International. 18 ed. Chapter 33: Dairy Products. USA:BRADLEY, R. L. 87 p. ISBN 0-935584-77-3

**ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 2006b.** Official Methods of Analysis of AOAC International. 18 ed. Chapter 4: Animal Feed. USA:WENDT THIEX, N. J. 72 p. ISBN 0-935584-77-3

**BOUFAÏED, H., P.Y. CHOUINARD, G.F. TREMBLAY, H.V. PETIT, R. MICHAUD, AND G. BÉLANGER. 2003.** Fatty acids in forages. I. Factors affecting concentrations. Can. J. Anim. Sci. 83:501–511.

**CARULLA J. 1999.** Efectos de la fertilización nitrogenada sobre la proteína del forraje. En: Cooperativa Lechera de Antioquia (eds), Simposio Internacional sobre la Proteína en la Leche. Medellín, 4p.a

**CASTRO E, CARULLA J AND CÁRDENAS E. 2009.** Productive potential of *Lotus uliginosus* in specialized dairy systems at the high altitudes of Colombian Andes. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* **48**: 277, 2009.

**CHIPATECUA M, PABÓN M, CÁRDENAS E, CARULLA J. 2007.** Efecto de la combinación de una leguminosa tanifera (*Lotus uliginosus* cv *Maku*) con *Pennisetum clandestinum*, sobre la degradación *in vitro* de proteína y materia seca. *Rev Colom Cienc Pec* vol.20 no.1.

**COLLOMB M, BUTIKOFER U, SIEBER R, JEANGROS B AND BOSSET J.O. 2002.** Correlation between fatty acids in cows' milk fat produced in the Lowlands, Mountains and Highlands of Switzerland and botanical composition of the fodder. *International Dairy Journal* 12 (2002) 661–666.

**DEWHURST RJ, FISHER WJ, TWEED JKS, AND WILKINS RJ. 2003.** Comparison of Grass and Legume Silages for Milk Production. 1. Production Responses with Different Levels of Concentrate. *J. Dairy Sci.* 86:2598–2611

**DIERKING RM , KALLENBACH RL, GRÜN IU. 2010.** Effect of forage species on fatty acid content and performance of pasture-finished steers. *Meat Science* 85: 597–605

**FRANK, C.; SMITH, E.; BRAUN, H.; HOLDRINET, M.; McWADE, J. 1975.** Organochlorine insecticides and industrial pollutants in the milk supply of the Southern Region of Ontario, Canada. *J. Milk Food Tech.* 38 (2): 65-72

**GARCÉS R Y MANCHA M. 1993.** One-Step Lipid Extraction and Fatty Acid Methyl Esters Preparation from Fresh Plant Tissues,. *Annal Biochem* 211, 139-143.

**HARFOOT, C. G., & HAZLEWOOD, G. P. 1997.** Lipid metabolism in the rumen. In P. N. Hobson & C. S. Stewart (Eds.), *The rumen microbial ecosystem* (pp. 382–426). London: Chapman and Hall.

**HAYDOCK K.P Y SHAW N.H. 1975.** The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry: Volume 15:* 663-670

**HUANG, Y.; SCHOONMAKER, J. P.; BRADFORD, B. J., and BEITZ, D. C. 2008.** Response of Milk Fatty Acid Composition to Dietary Supplementation of Soy Oil, Conjugated Linoleic Acid, or Both. *J. Dairy Sci.* 91 (1): 260- 270.

International Food Information Council. 2002. *Functional Foods Attitudinal Research*

**KHIAOSA-ARD, R., S. F. BRYNER, M. R. L. SCHEEDER, H.-R. WETTSTEIN, F. LEIBER, M. KREUZER, AND C. R. SOLIVA. 2009.** Evidence for the inhibition of the terminal step of ruminal  $\alpha$ -linolenic biohydrogenation by condensed tannins. *J. Dairy Sci.* 92:177–188.

**LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M., and VAN SOEST, P. J. 1996.** Standardization of Procedures for Nitrogen Fractionation of Ruminant Feeds. *Animal Feed Science and Technology.* 57 (4): 347- 358.

**LOOR, J.J., J.H. HERBEIN AND T.C. JENKINS, 2002.** Nutrient digestion, biohydrogenation, and fatty acid profiles in blood plasma and milk fat from lactating Holstein cows fed canola oil or canolamide. *Anim. Feed Sci Tec.*, 97: 65-82.

**LOURENCO M, G. VAN RANST, B. VLAEMINCK, S. DE SMET, V. FIEVEZ. 2008.** Influence of different dietary forages on the fatty acid composition of rumen digesta as well as ruminant meat and milk. *Animal Feed Science and Technology.* 145: 418–437.

**LOURENCO M, VAN RANST G DE SMET S, RAES K AND FIEVEZ V. 2007.**Effect of grazing pastures with different botanical composition by lambs on rumen fatty acid metabolism and fatty acid pattern of longissimus muscle and subcutaneous fat. *Animal 1:* Page 537–545.

**MOHAMMED R, STANTON C.S, KENNELLY J.J, KRAMER JKG, MEE J.F, GLIMM D.R, O'DONOVAN M AND J. J. MURPHY. 2009.** Grazing cows are more efficient than zero-grazed and grass silage-fed cows in milk rumenic acid production. *J. Dairy Sci.* 92 :3874–3893.

**MOJICA JE, CASTRO E, LEÓN J, CÁRDENAS E, PABÓN ML Y CARULLA JE. 2009.** Efecto de la oferta de pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) sobre la producción y

calidad composicional de la leche bovina. [Livestock Research for Rural Development 21 \(1\)](#).

**MIN, B; ATTWOOD, G; REILLY K; SUN, W; PETERS, J; BARRY, T AND MCNABB, W. 2002.** *Lotus corniculatus* condensed tannins decrease in vivo populations of proteolytic bacteria and affect nitrogen metabolism in the rumen of sheep. *Can J Microbiol.* 48 (10): 911-21.

**NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1996.** Carcinogens and Anticarcinogens in the Human Diet: A Comparison of Naturally Occurring and Synthetic Substances. National Academy Press, Washington, DC.

**OSTROWSKA, E., MURALITHARAN, M., CROSS, R. F., BAUMAN, D. E. & DUNSHEA, F. R. 1999.** Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *J. Nutr.* 129: 2037–2042.

**PARK, Y., ALBRIGHT, K. J., STORKSON, J. M., LIU, W., COOK, M. E. & PARIZA, M. W. 1999.** Changes in body composition in mice during feeding and withdrawal of conjugated linoleic acid. *Lipids* 34: 243–248.

**PRIOLO, A., G. C. WAGHORN, M. LANZA, L. BIONDI, AND P. PENNISI. 2000.** POLYETHYLENE glycol as a means for reducing the impact of condensed tannins in carob pulp: Effects on lamb growth performance and meat quality. *J. Anim. Sci.* 78:810–816.

**SAS. 2002.** Copyright (c) 2002 by SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. All Rights Reserved

**SCHONBERG, S. & KROKAN, H. E. 1995.** The inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives (CLA) of linoleic acid on the growth of human tumor cells lines is in part due to increased lipid peroxidation. *Anticancer Res.* 15: 1241–1246.

**SHULTZ, T. D., CHEW, B. P., SEAMAN W. R. & LUEDECKE, L. O. 1992.** Inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid and b-carotene on the in vitro growth of human cancer cells. *Cancer Lett.* 63: 125–133.

**SIMOPOULUS A. 2008.** The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. *Experimental Biology and Medicine.* 233:674-688.

**TURNER, S.A., WAGHORN, G.C., WOODWARD, S.L., THOMSON, N.A., 2005.** Condensed tannins in birdsfoot refoil (*Lotus corniculatus*) affect the detailed composition of milk from dairy cows. *N.Z. Soc. Anim. Prod.* 65, 283–289.

**VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B., and LEWIS, B. A. 1991.** Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J. Dairy Sci.* 74 (10): 3583- 3597.

**WARD, A.T., WITTENBERG, K.M., FROEBE, H.M., PRZYBYLSKI, R. AND MALCONLMSON, L. 2003.** Fresh forage and Solin Supplementation on Conjugated Linoleic Acid Levels in Plasma and Milk. *J. Dairy Sci.* 86: 1742-1750.



---

**YAMASAKI M, KISHIHARA K, IKEDA I, SUGANO M, YAMADA K. A . 1999.**  
Recomended Esterification Method for Gas Chromatographic Measurement of  
Conjugated Linoleic Acid. JAOCS 76, 933-938.



## **4. Efecto de la incorporación de trébol rojo (*trifolium pratense*) en pasturas de kikuyo sobre el perfil de ácidos grasos de la leche**

### **Effect of red clover (*Trifolium pratense*) in kikuyo pastures on milk fatty acids**

Javier León Caviedes<sup>1</sup>, Mauricio Morales Suarez<sup>1</sup>, Euclides De La Vega Gomez<sup>1</sup>, Martha Pabón Restrepo<sup>1,2</sup>, Edgar Cárdenas Rocha<sup>1,3</sup>, Juan Carulla Fornaguera<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Nutrición Animal, Universidad Nacional de Colombia

<sup>2</sup>Profesora Titular. Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá

<sup>3</sup>Profesor Asociado. Departamento de Producción Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá

#### **4.1 Resumen**

Para determinar el efecto de la incorporación de *Trifolium pratense* en pasturas de *Pennisetum clandestinum* sobre el perfil de ácidos grasos de la leche, se utilizaron 6 vacas Normando entre 2 a 5 partos y una producción promedio inicial de  $10,2 \pm 3,2$  L/d y  $90 \pm 12,3$  días en leche. Tres vacas fueron asignadas a cada uno de los tratamientos en un diseño de switch back 2 (tratamientos) x 3 (periodos). No se presentaron diferencias en la calidad nutricional de las dos pasturas ni en el contenido de ácidos grasos, sin embargo la producción de leche y el contenido de sólidos totales fue en mayor en las vacas que consumieron las pastura asociada *P. clandestinum* + *T. pratense* (12,1L/d vs 10,7 L/d y 13,04% vs 12,84%). Este efecto se relacionó con un mayor consumo de materia seca del forraje en la pastura asociada 12,5 vs 10,5 kg/vaca/día ( $P < 0,001$ ).

Se encontró mayor contenido de ácidos grasos C6:0, C8:0, C10:0, C12:0 y C14:0 en la leche producida en la pastura asociada *P. clandestinum* + *T. pratense* ( $P < 0,01$ ). La leche producida en la pastura de *P. clandestinum* presentó mayor contenido de C18:1- $\omega$ 9, vaccénico- $\omega$ 9 y ALC C18:2 *cis*9, *tran*11 ( $P < 0,05$ ).

La relación  $\omega$ 6: $\omega$ 3 fue menor en la leche producida en las pastura asociada *P. clandestinum* + *T. pratense* 2,16 vs 1,96 ( $P < 0,05$ ).

**Palabra claves:** Biohidrogenación, Lipólisis, Pastoreo, Polifenol oxidasa.

## 4.2 Abstract

To evaluate milk fatty acids content in two different pastures *Penissetum clandestinum* and *P. clandestinum* + *T. pratense* six Normado dairy cows were used. Cows had two to five lactation and  $10,2 \pm 3,2$  L/d average milk production and  $90 \pm 12,3$  days in milk **DIM**. Three cows were assigned randomly to each treatment in a switch back design 2 (treatments) x 3 (periods). No effect on nutritional quality and fatty acids content was found between pastures. However, milk production and total solids were higher ( $P < 0,001$ ) in cows grazing *P. clandestinum* + *T. pratense*. This effect was associated with higher dry matter intake from forage in those cows

Higher C6:0, C8:0, C10:0, C12:0 y C14:0 fatty acids were found in milk from cows grazing associated pasture ( $P < 0,001$ ). Milk produced in *P. clandestinum* pasture was higher in C18:1- $\omega$ 9 vaccenic acid and CLA C18:2 *cis*9, *trans*11 ( $P < 0,05$ ).

The relationship  $\omega$ 6: $\omega$ 3 was lower in milk produced in the associated pasture *P. clandestinum* + *T. pratense* 2,16 vs 1,96 ( $P < 0,05$ ).

**Key words:** Biohidrogenación, grazing, Polifenoloxidase, Lipolysis.

## 4.3 Introducción

El incremento de consumidores conscientes que los alimentos contienen microcomponentes que pueden tener efectos benéficos sobre el mantenimiento de la salud y prevención de enfermedades ha generado oportunidad para destacar dichas

propiedades en algunos alimentos de consumo masivo en la sociedad (Lock and Bauman 2004).

En la grasa láctea se han encontrado componentes funcionales en los que se incluyen ácidos grasos específicos como el ALC *cis9 trans11*, ácido vaccénico C18:1 *trans11*,  $\omega 6$  y  $\omega 3$  (National Research Council, 1996). Se ha aumentado la posibilidad de incrementar el contenido de estos ácidos grasos en la leche como resultado de recientes avances que han permitido tener un mayor conocimiento sobre la relación entre la fermentación ruminal, metabolismo de lípidos y síntesis de la grasa láctea (Lock and Bauman 2004).

Adicionalmente, entre otras investigaciones se destacan las propiedades benéficas de la leche para la salud humana gracias a una matriz compleja de nutrientes en la que se destacan péptidos, vitaminas, minerales y ácidos grasos (Schonberg and Krokan 1995, Shultz *et al.* 1992; Ostrowska *et al.* 1999, Park *et al.* 1999). La grasa láctea está presente como glóbulos complejos con propiedades estructurales diferentes de otras fuentes biológicas de grasa. Es una matriz compleja con más de 400 ácidos grasos diferentes, sin embargo, solo 20 de estos comprenden aproximadamente el 95% del total (Jensen 2002).

La dieta que consumen las vacas es determinante en la composición de la grasa láctea (Ward *et al.* 2003; Loo *et al.* 2003). La posibilidad de incrementar los compuestos benéficos para la salud humana como el ácido linoleico conjugado ALC, *cis9 trans11* y compuestos  $\omega 6$  y  $\omega 3$  se relaciona con el incremento de los precursores (ácidos grasos C18 poliinsaturados en la dieta) e inhibir el paso final de la biohidrogenación (ácido vaccénico a C18:0) a través de la modificación de la fermentación ruminal (Lock y Bauman 2004). Mohamed *et al.* (2009), mostraron como las vacas en pastoreo produjeron más ALC que las vacas estabuladas alimentadas con pasto o ensilajes, este efecto se explicó hasta en un 75% por la variación en el consumo de precursores. Las estrategias de manejo del pastoreo como la edad y la especie de forraje y la inclusión de leguminosas en las pasturas, son factores claves que modifican el perfil de ácidos grasos de la leche (Collomb *et al.* 2002) y que van enfocados a modificar la cantidad de precursores y la manera como estos se biohidrogenan en el rumen

Es conocido que el rumen es un medio reductor, esto significa que los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta son biohidrogenados a ácidos grasos saturados. El grado y la

velocidad de biohidrogenación de los ácidos grasos dependen de condiciones particulares del medio ruminal (Harfoot y Hazlewood, 1997). Durante este proceso se generan una serie de intermediarios que permiten la obtención entre otros del ácido linoleico conjugado y su precursor en glándula mamaria, el ácido vaccénico. Sin embargo, se ha encontrado que los rumiantes que consumen pasturas con una composición botánica diversa, en las cuales la composición de ácidos grasos de las diferentes especies es similar, se produce leche o carne con mayores contenidos de ácidos grasos poliinsaturados.

Algunos compuestos presentes en las plantas pueden reducir la biohidrogenación ruminal y así permitir que los ácidos grasos insaturados de la dieta del animal puedan ser incorporados en la grasa de la leche sin sufrir mayor modificación (Dierking *et al.* 2010). Una aproximación inicial en el estudio de este tipo de compuestos es una enzima denominada polifenol oxidada **PFO**, una metaloenzima que genera productos altamente reactivos y que forman complejos proteicos los cuales reducen el grado de proteólisis y lipólisis en el rumen (Lee *et al.* 2007). Se ha demostrado que la actividad de la PFO presente en el trébol rojo puede reducir la biohidrogenación de ácidos grasos poliinsaturados en el rumen y así aumentar el contenido de estos en la leche.

El incremento en el flujo de C18:3- $\omega$ 3 desde el rumen en pasturas con trébol rojo se ha relacionado con una disminución en la biohidrogenación ruminal (Loor *et al.* 2003, Dewhurst *et al.* 2003, Lee *et al.* 2006). Un compuesto relacionado con este efecto es la polifenoloxidasas, un metabolito secundario que produce compuestos fenólicos que interfieren con la lipólisis y posterior biohidrogenación (Lourenco *et al.* 2008). Por esta razón la leche proveniente de pasturas con trébol rojo resultaría en un alto potencial para incrementar el contenido de ácidos grasos poliinsaturados.

El trébol rojo es una leguminosa que se utiliza de forma tradicional en los sistemas de producción de leche en Colombia, por esta razón, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la incorporación de trébol rojo en pasturas de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) sobre el perfil de ácidos grasos de la leche.

#### **4.4 Materiales y Métodos**

**Localización:** El experimento se llevó a cabo en la finca EL RECUERDO ubicada en el municipio de Sopó (Cundinamarca), con una posición geográfica de 4° 48' 854" Norte y

73°57' 959" La finca se encuentra a 2607 msnm, temperatura promedio 14° con oscilaciones entre -2° a 20°C, la precipitación promedio anual es de 800 mm/año. El experimento se llevo a cabo durante los meses de mayo a julio de 2010.

**Metodología experimental:** Se utilizaron seis vacas de la raza Normando con un peso promedio de  $480 \pm 30$  Kg, número de partos 3 a 5 y una producción promedio inicial de  $10,2 \pm 3,2$  L/d. Al iniciar el experimento las vacas estaban en  $90 \pm 12,3$  días en leche **DEL**. Los tratamientos consistieron en dos tipos de pasturas, una pastura asociada de kikuyo (*P. clandestinum*) + trébol rojo (*Trifolium pratense*) y una pastura pura de kikuyo. La pastura de kikuyo fue fertilizada con manejo tradicional de urea a razón de 50 kg/N/ha por pastoreo de 60 días, la pasturas asociadas con trébol fue fertilizada con 46 kg de P y 18 de kg de N/ha por pastoreo de 60 días.

Tres animales fueron asignados al azar a cada una de las pasturas en un diseño switch back 2x3 (2 tratamientos x 3 periodos). Se manejó una oferta diaria de forraje de 17 kg de materia seca MS/vaca/día lo que corresponde a 3,5 kg/100 kg de peso vivo por animal, asignada una vez al día mediante utilización de cuerda eléctrica. Cada periodo experimental fue de 21 días, con los últimos 7 días de medición. El tiempo total de experimentación fue de 63 días, tres periodos consecutivos de 21 días.

La oferta de forraje de 60 días de rebrote se ajustó diariamente mediante la estimación de la masa forrajera utilizando la técnica de cuadrantes de referencia descrita por Haydock y Shaw (1975). La diferencia entre la producción de biomasa inicial y el remanente luego del pastoreo diario de los animales sirvió para estimar el consumo de materia seca del grupo de 3 animales. La estimación de consumo de la pastura se llevó a cabo durante los últimos 7 días de cada periodo; adicionalmente, se determino la composición botánica tanto de la oferta como del residuo.

Se suministro alimento balanceado a razón de 3 Kg por animal por día, distribuidos en 1,5 kg en cada ordeño AM – PM. La composición de ingredientes y nutrientes alimento balanceado se presenta en la Tabla 12.

Tabla 12. Composición de ingredientes y nutrientes del alimento balanceado

<b>Ingredientes</b>	<b>%</b>
Maíz grano	29,9
Torta de palmiste	17,4
Torta de soya	13,5
Melaza	12,0
Torta de algodón	12,0
Harina de maíz	9,5
Levadura de cerveza	2,4
Carbonato de calcio	1,9
Mogolla de trigo	1,2
Oxido de magnesio	0,2
Premezcla mineral	0,03
<b>Nutrientes</b>	<b>% de la MS</b>
Materia seca	88
FDN	23,8
FDA	12,2
Proteína	18,5
Extracto etéreo	6,5
<b>Ácidos grasos</b>	<b>% del total AG</b>
C12:0	7,5
C14:0	4,1
C16:0	36,8
C18:0	5,1
C18:1	29,6
C18:2	16,5
C18:3	0,3

**Toma de muestras:** En cada uno de los periodos se tomaron muestras de leche, forraje y suplemento.

El ordeño se llevó a cabo manualmente. Las muestras de leche fueron recolectadas durante los días 19 y 20 de cada periodo. Se tomó una muestra individual de 150 ml en cada uno de los ordeños directamente de la cantina previa agitación de la leche total del ordeño de cada vaca. Al final del día se realizó una mezcla de la muestras proporcional a la producción en cada ordeño. Las muestras de los dos días fueron mezcladas para formar una sola muestra. Se separaron dos alícuotas de 200 ml, a una se le adicionó dicromato de potasio y se congeló para posterior análisis de proteína cruda. La otra alícuota de 200 ml fue procesada en fresco para la extracción de grasa y análisis de sólidos totales, grasa bruta y nitrógeno ureico en leche.



Las muestras de forraje fueron tomadas los días 17, 18 y 19 de cada periodo mediante la técnica "hand pluck" simulando el pastoreo de animal. Las muestras de los tres días fueron mezcladas para constituir una sola muestra de forraje por periodo. Las muestras fueron secadas mediante horno de aire forzado a 60° por 48 horas para análisis de PC, FDA, FDN, Cenizas, MS, y liofilizadas por 48 horas para análisis de ácidos grasos. Las muestras de suplemento fueron tomadas el día 17, 18, y 19. Una sola muestra compuesta de los tres días fue secada a 60°C por 48h para análisis de PC, FDA, FDN, Cenizas, MS

### **Extracción de la grasa en la leche, forraje y suplemento**

La extracción de grasa láctea se realizó través de modificación a la técnica de separación mecánica descrita por Frank *et al.* (1975) de la siguiente manera: se centrifugaron 50 ml de leche (15 min a 3000 rpm), se retiró la fracción acuosa dejando el sobrenadante al cual se le adicionó leche hasta completar 50 ml, se repitieron los procesos de centrifugación y de retirado de la fracción acuosa. El sobrenadante fue mezclado con 15 ml de solución detergente (50 g de hexametáfosfato de sodio (NaPO<sub>3</sub>)<sub>6</sub> y 24 ml de Tritón X-100 - C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OH- disueltos en un litro de agua). La mezcla fue calentada a 60°C y la fracción grasa fue retirada de la parte superior, la grasa se almacenó a -70°C para posterior análisis.

La extracción y metilación de los ácidos grasos en el forraje y suplemento se realizó mediante modificación de la técnica de Garcés y Mancha, 1993 y Yamasaki *et al.* 1999). A las muestras secas se les adicionó metanol, tolueno, ácido sulfúrico, N-N dimetilformamida y hexano, la mezcla fue sometida a calentamiento a 80°C en baño maría durante 2 horas. Luego la fase hexánica fue retirada, secada y reconstituida con diclorometano para ser inyectada en el cromatógrafo de gases.

### **Análisis Químicos**

Las muestras de leche fueron analizadas para grasa por el método de Gerber (AOAC-2000.18, 2006a), proteína cruda, método Kjeldahl (AOAC-991.20, 2006a), sólidos totales (AOAC-925.23, 2006a) y cenizas (AOAC-945.46 2006a).

Las muestras de forraje y suplemento se les determinó humedad (AOAC-930.15, 2006b), fibra detergente neutro (Van Soest *et al.*, 1991), fibra detergente ácido (Van Soest *et al.*, 1991), lignina (Van Soest *et al.*, 1991), proteína cruda Kjeldahl (AOAC-2001.11, 2006b) y cenizas (AOAC-9942.05, 2006b).

**Cuantificación de ácidos grasos (leche, forrajes y suplementos).** Los ésteres de ácidos grasos metilados (**FAME** por sus iniciales en inglés) de la grasa de la leche, de los forrajes y los suplementos fueron cuantificados por cromatografía de gases, para lo cual se utilizó un cromatógrafo de gases marca Shimadzu® modelo GC-2014 cap FID columna Rt 2560 (Restek®) columna capilar de 100 m x 0.25 mm x 0.2 µm.

### **Análisis estadístico.**

Se utilizó un diseño de switch back 2 (tratamientos) x3 (periodos). Para el análisis de resultados se utilizó el programa estadístico SAS procedimiento PROC MIXED, para los casos en que fuera necesaria la comparación de medias se llevó a cabo la prueba de TUKEY.

$$Y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \beta_k + \text{SUB}(\beta)_{jk} + \delta_k + \varepsilon_{ijkl}$$

$Y_{ijkl}$  = Observación del  $j$ -ésima vaca, en la  $i$ -ésima pastura, en el orden de pastoreo  $k$  y en el periodo  $l$

$\mu$  = Promedio general

$\tau_i$  = Efecto fijo de la pastura  $i$  ( $i = 1$  a  $2$ )

$\beta_k$  = Efecto del orden de pastoreo  $k$  ( $k = 1$  a  $2$ )

$\text{SUB}(\beta)_{jk}$  = Efecto al azar de la vaca  $j$  en el orden  $k$  ( $J = 1$  a  $6$ )

$\delta_k$  = Efecto del periodo  $l$  ( $l = 1$  a  $3$ )

$\varepsilon_{ijkl}$  = Error aleatorio

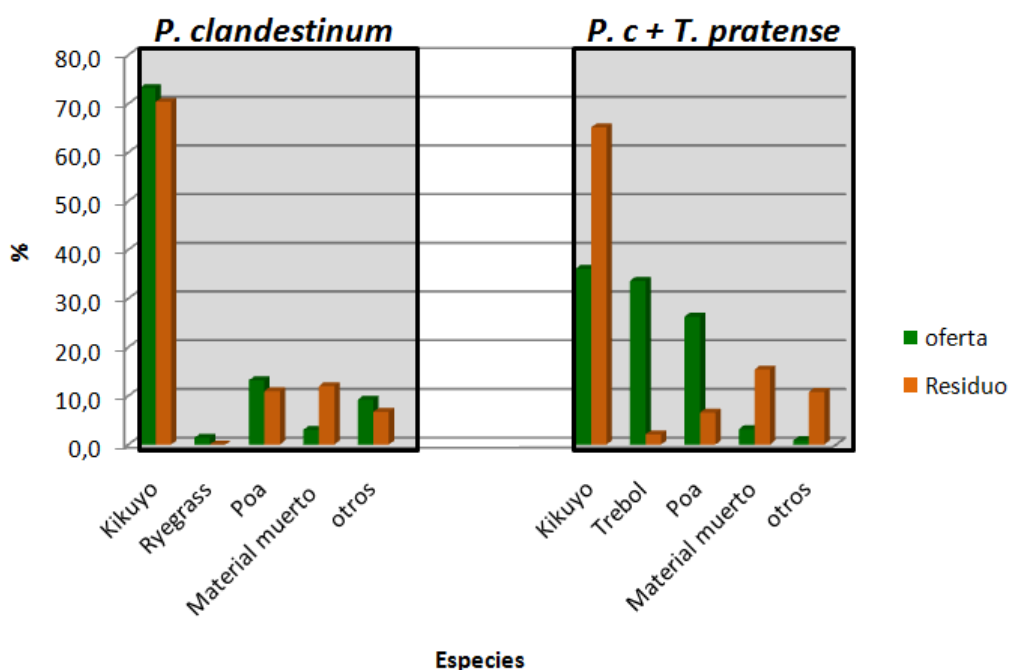
Para el análisis de consumo de materia seca del forraje se definió la unidad experimental como el grupo de tres vacas de manera que el termino de error estuvo definido como efecto del grupo  $J$  en el orden  $K$  ( $J = 1$  a  $2$ ).

## **4.5 Resultados y Discusión**

### **Calidad nutricional de las pasturas**

La grafica 3 presenta la composición botánica de la oferta y el residuo en cada una de las pastura evaluadas: *Pennisetum clandestinum* (P.c) y *P. clandestinum* + *Trifolium pratense* (P.c+T.p).

La pastura **P.c** estuvo dominada por la gramínea principal, otras especies encontradas fueron *Lolium perenne*, *Holcus lanatus* y otras especies tipo Rumex spp. El análisis del residuo muestra un comportamiento similar a la composición de la oferta y un mayor rechazo del material muerto. La pastura **P.c + T.p** estuvo compuesta por un 30% de leguminosa, dos especies principales de gramínea *Pennisetum clandestinum* y *Holcus lanatus*. El análisis del residuo evidencia una preferencia de las vacas por *Trifolium pratense* y *Holcus lanatus*. Se presentó un buen establecimiento de la leguminosa y su presencia fue homogénea dentro de la pastura.



Gráfica 3. Composición botánica de la oferta y el residuo de cada una de las pasturas evaluadas

Con base en la Grafica 3 se construyó la Tabla 13 para describir el consumo de materia seca individual de cada una de las especies presentes en las pasturas evaluadas. Las vacas en la pastura **P.c** consumieron esta gramínea principalmente seguida en menor proporción por la gramínea *H. lanatus*. Otras especies que también fueron consumidas dentro de esta pasturas fueron principalmente del genero Rumex spp y *Taraxacum officinale*.

Las vacas en la pastura **P.c + T.p** seleccionaron mayoritariamente la leguminosa *T. pratense* seguida de las gramíneas *H. lanatus* y *P. clandestinum* con una mayor selección por la primera gramínea.

Tabla 13. Descripción del consumo de materia seca de cada una de las diferentes especies presentes en cada pastura

<b>Pastura<sup>1</sup></b>			
	<b>P.c</b>		<b>P.c + T.p</b>
	Kg MS/vaca/día		
<i>P. clandestinum</i>	7,7	<i>T. pratense</i>	<b>6,0</b>
<i>H. lanatus</i>	1,5	<i>H. lanatus</i>	<b>4,2</b>
Otros	1,0	<i>P. clandestinum</i>	<b>2,3</b>
<i>L. perenne</i>	0,3	Material muerto	<b>0</b>
Material muerto	0	Otros	<b>0</b>
<b>Total</b>	<b>10,5</b>		<b>12,5</b>

<sup>1</sup>**Pastura:** **P.c** *Pennisetum clandestinum*; **P.c + T.p:** *P. clandestinum* + *Trifolium pratense*.

No se presentaron diferencias en la calidad nutricional de las pasturas (Tabla 14). Sin embargo, el consumo de materia seca del forraje fue mayor ( $P < 0,001$ ) en las vacas en la pastura **P.c + T.p** (Tabla 15). Un resultado similar fue encontrado por Van Dorland *et al.* (2007), quienes reportaron una mayor preferencia de consumo de trébol rojo y blanco sobre ryegrass, a pesar de que no se encontraron diferencias en la composición nutricional. Rutter *et al.* (2006), indicó una mayor palatabilidad de la pasturas con trébol, a través de diferentes evaluaciones de comportamiento en pastoreo. Moorby *et al.* (2009) con una proporción de trébol rojo similar a la del presente trabajo (34%), encontró un aumento en el consumo de materia seca de ensilaje de 1 Kg comparado frente al ensilaje de Ryegrass puro, a pesar de que no encontró diferencias en la calidad nutricional de los dos tipos de ensilajes.

**Tabla 14.** Calidad nutricional de las pasturas

	Pastura <sup>1</sup>		SEM	Significancia
	P.c	P.c + T.p		
MS, %	19	18	1,5	NS
PC, %	17,2	15,8	2,0	NS
FDN, %	61,6	58,1	6,5	NS
FDA, %	27,2	28,7	3,9	NS
EE, %	5,0	5,0	0,06	NS
DIVMS, %	59,0	60,4	7,3	NS

<sup>1</sup>**Pastura:** *P.c* Pennisetum clandestinum; *P.c + T.p*: P. clandestinum + Trifolium pratense.

La producción de leche y el contenido de sólidos totales incrementaron ( $P < 0,05$ ) en un 13% y 4% respectivamente en las vacas que consumieron la pastura *P.c + T.p* (Tabla 15). Resultados similares fueron encontrados en otros estudios con ensilajes de trébol rojo y Ryegrass. Moorby *et al.* (2009), incorporó 34% de ensilaje de trébol rojo e indicó un aumento en la producción de leche de 4% en vacas Holstein de 25 litros/día promedio y una reducción del 3% en el contenido de grasa en leche. Dewhurst *et al.* (2003), reportó un incremento de 13% en el consumo de ensilaje cuando incorporó trébol rojo, esto resultó en un 14% más de producción de leche sin afectar la composición. Dierking *et al.* (2010), reportó un incremento en la ganancia diaria de peso en novillas alimentadas con una mezcla de *F. arundinacea* y *T. pratense*. El mejoramiento del desempeño productivo en las pasturas que tienen leguminosas se relacionó con un incremento en el consumo de materia seca proveniente del forraje lo cual resulta en un mejor estado energético del animal.

**Tabla 15.** Consumo de materia seca, producción y composición de la leche

	Pastura <sup>1</sup>		SEM	P
	<i>P.c</i>	<i>P.c + T.p</i>		
<b>MS Forraje, kg/vaca/d</b>	10,5 <sup>b</sup>	12,5 <sup>a</sup>	6,2	***
<b>Leche, L/d</b>	10,7 <sup>b</sup>	12,1 <sup>a</sup>	1,2	*
<b>Grasa, %</b>	3,95	3,98	0,22	NS
<b>Proteína, %</b>	3,08	3,12	0,02	NS
<b>Sólidos totales, %</b>	12,84 <sup>b</sup>	13,04 <sup>a</sup>	0,01	**

<sup>1</sup>**Pastura:** *P.c* *Pennisetum clandestinum*; *P.c + T.p*: *P. clandestinum* + *Trifolium pratense*.

<sup>ab</sup> Letras diferentes en la mis fila indican diferencias estadísticas significativas \*\*\*P<0,001; \*\*P<0,01; \*P<0,05.

### **Ácidos grasos en las pasturas**

No se presentaron diferencias en el perfil de ácidos grasos en las pasturas. Los ácidos grasos de mayor relevancia fueron en su orden C18:3- $\omega$ 3, C18:2- $\omega$ 6 y C16:0 (Tabla 16). Estos ácidos grasos representan entre el 80 y 90% de los ácidos grasos en forrajes frescos de acuerdo con lo reportado por Elgersma *et al.* (2003). El contenido de C12:0 fue superior al reportado por Moorby *et al.* (2009), (0,3%) en ensilajes de ryegrass y trébol rojo, adicionalmente no se presentó efecto de la inclusión de trébol rojo sobre el contenido de este ácido graso. El contenido de C14:0 fue inferior en un 50% al reportado por Moorby *et al.* (2009), pero similar al reportado por Dierking *et al.* (2010), quienes utilizaron forrajes frescos de *F. arundanacea* y *T. pratense*. Sin embargo, la presencia de la leguminosa no presentó efecto sobre este ácido graso, al igual que en el presente estudio. El contenido de C16:0 y C18:0 fue superior al encontrado por Dierking *et al.* 2010, al igual que en el presente trabajo no se presentó efecto de la inclusión de la leguminosa sobre estos ácidos grasos. De otro lado, el trabajo de Moorby *et al.* (2009), con ensilajes, reporta un aumento en el contenido de C16:0 y C18:0 conforme incrementa la proporción de trébol rojo en el ensilaje. El contenido de C18:2 y C18:3 representan el mayor interés pues impactan de manera significativa el perfil de ácidos grasos de la leche. La biohidrogenación incompleta de estos ácidos grasos en el rumen permiten la producción de ácido linoleico conjugado y vaccenico en el rumen y su

posterior incorporación en la leche. A pesar de que no existan diferencias significativas en el perfil de ácidos grasos del forraje, la presencia de metabolitos secundarios en las leguminosas permite modificar el perfil de ácidos grasos de la leche. Dierking *et al* (2010), reportó un incremento en el contenido de C18:2- $\omega$ 6 en la pastura cuando se incorporó trébol rojo en pasturas de *Festuca*, sin embargo no se evidenció ningún efecto sobre el contenido de C18:3- $\omega$ 3. Caso contrario sucede con ensilajes como en el trabajo de Moorby *et al* (2009) y Dewhurst *et al* (2003), pues no hay efecto de la inclusión de leguminosa sobre el contenido de C18:2- $\omega$ 6, pero si hay disminución en el contenido de C18:3- $\omega$ 3 cuando incrementa la proporción de trébol rojo en el ensilaje.

En el presente trabajo, la incorporación de trébol en pasturas de kikuyo no presentó ningún efecto sobre el perfil de ácidos grasos de la pastura (Tabla 16)

**Tabla 16.** Perfil de ácidos grasos de las diferentes pasturas

Acido graso	Pastura <sup>1</sup>		SEM	Significancia
	<i>P.c</i>	<i>P.c + T.p</i>		
<b>C12:0</b>	4,51	4,33	0,01	NS
<b>C14:0</b>	0,37	0,41	0,0003	NS
<b>C16:0</b>	20,9	21,0	3,2	NS
<b>C18:0</b>	1,79	2,97	1,12	NS
<b>C18:1-<math>\omega</math>9</b>	1,91	2,19	0,03	NS
<b>C18:2-<math>\omega</math>6</b>	15,6	14,5	3,6	NS
<b>C18:3-<math>\omega</math>3</b>	53,3	52,6	13,7	NS
<b>AGPI</b>	68,9	67,2	12,5	NS

<sup>1</sup>*Pastura: P.c Pennisetum clandestinum; P.c + T.p: P. clandestinum + Trifolium pratense.*

### **Ácidos grasos en la leche**

El contenido de ácidos grasos pares de cadena corta C6, C8 y C10 y de cadena media C12 y C14 fue mayor ( $P < 0,001$ ) en la leche de las vacas que consumieron la pastura *P.c + T.p* (Tabla 17). Los valores reportados en este trabajo fueron inferiores a los reportados por Dewhurst *et al.* (2003) y Moorby *et al.* (2009) y el comportamiento fue contrario debido a que el contenido de estos ácidos grasos aumentó cuando se incorporó trébol rojo en el ensilaje. Moorby *et al.* (2009), reportó una disminución en el contenido de ácido palmítico C16:0 en la leche de las vacas que consumieron una mezcla de ensilaje de trébol rojo y Ryegrass. Sin embargo, Dewhurst *et al* (2003), al igual que en el presente

trabajo no encontró efecto significativo del consumo de trébol rojo sobre el contenido de C16:0. El valor de C16:0 encontrado en el presente trabajo en pastoreo fue un 20% inferior al encontrado en la leche de las vacas alimentadas con ensilajes. Los trabajos con ensilajes que incorporan trébol rojo reportan un incremento en el contenido de C18:1 en la leche con el aumento de la proporción de esta leguminosa, sin embargo Dierking *et al.* (2010) reportó una disminución en el contenido de este ácido graso en el músculo *Longissimus dorsi* cuando los animales pastorean en una mezcla de *F. arundinacea* y *T. pratense*.

El contenido de C18:2- $\omega$ 6 y C18:3- $\omega$ 3 en la leche no se vio afectado por la presencia de *T. pratense* en la pastura. Trabajos con ensilajes han asociado la presencia de trébol rojo con un aumento en el contenido de estos ácidos grasos en leche y carne (Vanhatalo *et al.* 2007; Dewhurst *et al.* 2003; Moorby *et al.* 2009). Adicionalmente, las vacas lecheras alimentadas con ensilajes de trébol rojo produjeron leche con más ácidos grasos poliinsaturados y una menor relación  $\omega$ 6: $\omega$ 3 que las alimentadas con trébol blanco (Steinshamn *et al.* 2007). El incremento de ácidos grasos insaturados en la leche y la carne de bovinos que consumen ensilajes con trébol rojo se ha relacionado a la actividad de la polifenol oxidasa presente en esta leguminosa, la cual permite reducir la lipólisis y posterior biohidrogenación de los ácidos grasos poliinsaturados. Recientes ensayos en pastoreo no evidenciaron efecto de la presencia de trébol rojo en pasturas de *F. arundinacea* (Dierking *et al.* 2010). Al igual que en el presente trabajo, las explicaciones consisten en una baja proporción de la leguminosa en la pastura y a la falta de activación de la polifenol oxidasa cuando los animales consumen el forraje fresco directamente, pues se requiere de un daño previo para permitir que la PFO ejerza un efecto protector sobre los ácidos grasos de la planta. Existe una limitación de tiempo para la activación de la polifenol oxidasa durante la masticación en pastoreo, caso contrario sucede en el proceso de ensilaje donde el periodo de marchitamiento previo permite una activación completa de la actividad de la polifenol oxidasa (Lee *et al.* 2009). Se presentó una menor relación  $\omega$ 6: $\omega$ 3 en los animales que consumieron la pastura con trébol rojo. Igual comportamiento fue reportado en trabajos en pastoreo (Dierking *et al.* 2010) y con ensilajes (Moorby *et al.* 2009 y Dewhurst *et al.* 2003). El contenido de ácido linoleico conjugado fue más alto ( $P < 0,05$ ) en la pastura pura de kikuyo, este resultado está de acuerdo con trabajos previos en Colombia que destacan a *P. clandestinum* como una pasturas con ventajas comparativas para la producción de leche ricas en ALC *cis*9



*trans*11 (Rico *et al.* 2007; Aguilar *et al.* 2009). Esta pastura es particularmente importante en los sistemas especializados de producción de leche en Colombia, y la leche de las vacas que consumen esta pastura se diferencia de otras gramíneas y leguminosas utilizadas en los sistemas de producción de leche porque los valores de ALC son superiores.

**Tabla 17.** Composición de la grasa láctea

Acido graso	<i>P.c</i>	<i>P.c + T.p</i>	SEM	<i>P</i>
	mg/g de grasa			
C6:0	16,0 <sup>b</sup>	17,5 <sup>a</sup>	0,049	***
C8:0	9,6 <sup>b</sup>	10,6 <sup>a</sup>	0,04	**
C10:0	20,2 <sup>b</sup>	22,5 <sup>a</sup>	0,2	**
C11:0	2,5	2,6	0,007	NS
C12:0	27,2 <sup>b</sup>	30,1 <sup>a</sup>	0,3	**
C13:0	1,3	1,3	0,02	NS
C14:0	97,9 <sup>b</sup>	103,6 <sup>a</sup>	0,19	*
C14:1	8,2	7,8	0,06	NS
C15:0	14,2	13,9	0,038	NS
C16:0	265,7	272,5	8,5	NS
C16:1	9,9	9,4	0,07	NS
C17:0	6,9	6,8	0,007	NS
C18:0	141,6	142,7	7,1	NS
Transvaccenico,	42,9	42,1	0,02	NS
Oleico, C18:1- $\omega$ 9	231 <sup>b</sup>	216 <sup>a</sup>	6,3	**
Vaccénico- $\omega$ 9	4,1 <sup>a</sup>	3,5 <sup>b</sup>	0,03	*
Linoleico- $\omega$ 6	9,8	9,4	0,12	NS
Linolenico- $\omega$ 3	4,7	4,8	0,049	NS
ALC cis9, trans 11	15,3 <sup>a</sup>	14,2 <sup>b</sup>	0,086	*
Saturados	60,3 <sup>b</sup>	62,4 <sup>a</sup>	0,13	**
Insaturados	32,6 <sup>a</sup>	30,8 <sup>b</sup>	0,08	**
Relación $\omega$ 6: $\omega$ 3	2,16 <sup>a</sup>	1,96 <sup>b</sup>	0,002	*

<sup>1</sup>*Pastura: P.c Pennisetum clandestinum; P.c + T.p: P. clandestinum + Trifolium pratense.*

<sup>ab</sup> Letras diferentes en la mis fila indican diferencias estadísticas significativas \*\*\* $P < 0,001$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \* $P < 0,05$ .

## 4.6 Conclusiones

Se destaca el mayor contenido de ácido linoleico conjugado ALC *cis*9 *trans*11 en la leche de vacas que consumen kikuyo puro en comparación con las que consumen kikuyo +

trébol, confirmando los resultados previos en estudios desarrollados en Colombia. No se presentó efecto de la leguminosa sobre el contenido de ácidos grasos poliinsaturados linoleico y linolenico como se había resaltado en la literatura. Una de las posibles explicaciones a la falta de efecto es que se requiere de una previa activación de la polifenol oxidasa presente en el trébol rojo, lo cual se logra a través de un daño físico previo al consumo por parte de los animales. Este tipo de daño se ha relacionado con los procesos de ensilado y cortado, sin embargo los contenidos de ácidos grasos poliinsaturados en el forraje disminuyen durante estos procesos. Se presentó un incremento en el consumo de forraje asociado con la presencia de la leguminosa en la pastura, esto resultó en un aumento en la producción y el contenido de sólidos totales en la leche.

#### 4.7 Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural MADR por proporcionar los recursos financieros necesarios para llevar a cabo esta investigación. Al programa Jóvenes Investigadores “Virginia Gutiérrez de Pineda” de COLCIENCIAS, Así mismo al laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad nacional de Colombia por facilitar sus instalaciones para el desarrollo de los análisis.

#### 4.8 Bibliografía

**AGUILAR, O. X.; G, MORENO M; B. M.; PABÓN R., M. L. y CARULLA F., J. E. 2009.** Efecto del consumo de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) o raigrás (*Lolium hybridum*) sobre la concentración de ácido linoléico conjugado y el perfil de ácidos grasos de la grasa láctea. *Livestock Research for Rural Development*, 21:4.

**ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 2006a.** Official Methods of Analysis of AOAC International. 18 ed. Chapter 33: Dairy Products. USA:BRADLEY, R. L. 87 p. ISBN 0-935584-77-3

**ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 2006b.** Official Methods of Analysis of AOAC International. 18 ed. Chapter 4: Animal Feed. USA:WENDT THIEX, N. J. 72 p. ISBN 0-935584-77-3

**COLLOMB M, BUTIKOFER U, SIEBER R, JEANGROS B AND BOSSET J.O. 2002.** Correlation between fatty acids in cows' milk fat produced in the Lowlands, Mountains and Highlands of Switzerland and botanical composition of the fodder. *International Dairy Journal* 12 (2002) 661–666.

**DEWHURST RJ, FISHER WJ, TWEED JKS, AND WILKINS RJ. 2003.** Comparison of grass and legume silages for milk production. 1. Production responses with different levels of concentrate. *J. Dairy Sci.* 86:2598–2611

**DIERKING RM , KALLENBACH RL, GRÜN IU. 2010.** Effect of forage species on fatty acid content and performance of pasture-finished steers. *Meat Science* 85: 597–605

**ELGERSMA A., ELLEN G., VAN DER HORST H., MUUSE B.G., BOER H., TAMMINGA S. 2003.** Comparison of the fatty acid composition of fresh and ensiled perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), affected by cultivar and regrowth interval. *Animal Feed Science and Technology*, 108, 191–205.

**FRANK, C.; SMITH. E.; BRAUWN, H.; HOLDRINET, M.; McWADE, J. 1975.** Organochlorine insecticides and industrial pollutants in the milk supply of the Southern Region of Ontario, Canada. *J. Milk Food Tech.* 38 (2): 65-72

**GARCÉS R Y MANCHA M. 1993.** One-Step Lipid Extraction and Fatty Acid Methyl Esters Preparation from Fresh Plant Tissues,. *Annal Biochem* 211, 139-143.

**HAYDOCK K.P Y SHAW N.H. 1975.** The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*: Volume 15: 663-670

**HUANG, Y.; SCHOONMAKER, J. P.; BRADFORD, B. J., and BEITZ, D. C. 2008.** Response of Milk Fatty Acid Composition to Dietary Supplementation of Soy Oil, Conjugated Linoleic Acid, or Both. *J. Dairy Sci.* 91 (1): 260- 270

**JENSEN RG. 2002.** The composition of bovine milk lipids: *J Dairy Sci* 85:295–350.

**LEE RF, PARFITT, SCOLLAN ND AND FRANK R MINCHIN. 2007.** Lipolysis in red clover with different polyphenol oxidase activities in the presence and absence of rumen fluid. *J Sci Food Agric* 87:1308–1314

**LEE MRF, TWEED JKS, MINCHIN FR, WINTERS AL. 2009.** Red clover polyphenol oxidase: Activation, activity and efficacy under grazing. *Animal Feed Science and Technology* 149: 250–264

- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M., and VAN SOEST, P. J.** 1996. Standardization of Procedures for Nitrogen Fractionation of Ruminant Feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 57 (4): 347- 358.
- LOOR, J.J., J.H. HERBEIN AND T.C. JENKINS, 2002.** Nutrient digestion, biohydrogenation, and fatty acid profiles in blood plasma and milk fat from lactating Holstein cows fed canola oil or canolamide. *Anim. Feed Sci Tec.*, 97: 65-82.
- LOCK L AND BAUMAN DE. 2004.** Modifying Milk Fat Composition of Dairy Cows to Enhance Fatty Acids Beneficial to Human Health. *Lipids* 39:1197-1206
- LOURENCO M, G. VAN RANST, B. VLAEMINCK, S. DE SMET, V. FIEVEZ. 2008.** Influence of different dietary forages on the fatty acid composition of rumen digesta as well as ruminant meat and milk. *Animal Feed Science and Technology*. 145: 418–437.
- LOURENCO M, VAN RANST G DE SMET S, RAES K AND FIEVEZ V. 2007.**Effect of grazing pastures with different botanical composition by lambs on rumen fatty acid metabolism and fatty acid pattern of longissimus muscle and subcutaneous fat. *Animal* 1: Page 537–545.
- MOORBY JM, LEE MRF, DAVIES DR, KIM EJ, NUTE GR, ELLIS NM, AND SCOLLAN ND. 2009.** Assessment of dietary ratios of red clover and grass silages on milk production and milk quality in dairy cows. *Journal of Dairy Science* Vol. 92 No. 3
- MOHAMMED R, STANTON C.S, KENNELLY J.J, KRAMER JKG, MEE J.F, GLIMM D.R, O'DONOVAN M AND J. J. MURPHY. 2009.** Grazing cows are more efficient than zero-grazed and grass silage-fed cows in milk rumenic acid production. *J. Dairy Sci.* 92 :3874–3893.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1996.** Carcinogens and Anticarcinogens in the Human Diet: A Comparison of Naturally Occurring and Synthetic Substances. National Academy Press, Washington, DC.
- OSTROWSKA, E., MURALITHARAN, M., CROSS, R. F., BAUMAN, D. E. & DUNSHEA, F. R. 1999.** Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *J. Nutr.* 129: 2037–2042.
- PARK, Y., ALBRIGHT, K. J., STORKSON, J. M., LIU, W., COOK, M. E. & PARIZA, M. W. 1999.** Changes in body composition in mice during feeding and withdrawal of conjugated linoleic acid. *Lipids* 34: 243–248.
- RICO J.E., MORENO B., PABÓN ML., CARULLA, J. 2007.** Composición de la grasa láctea de la sabana de Bogotá con énfasis en ácido ruménico - CLA cis-9, trans-11.. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 20, 30-39.

**SCHONBERG, S. & KROKAN, H. E. 1995.** The inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives (CLA) of linoleic acid on the growth of human tumor cells lines is in part due to increased lipid peroxidation. *Anticancer Res.* 15: 1241–1246.

**SHULTZ, T. D., CHEW, B. P., SEAMAN W. R. & LUEDECKE, L. O. 1992.** Inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid and b-carotene on the in vitro growth of human cancer cells. *Cancer Lett.* 63: 125–133.

**STEINSHAMN, H.; THUEN, E AND BRENØE, U.T. 2007.** Clover species in grass-clover silages affects milk fatty acid composition. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 16, Suppl. 1, 65–69

**RUTTER S.M, ORR R.J, YARROW N.H, AND CHAMPION R.A . 2004.** Dietary Preference of Dairy Cows Grazing Ryegrass and White Clover. *J. Dairy Sci.* 87:1317–1324

**STEINSHAMN H, THUEN E, and BRENØE UT. 2007.** Clover species in grass–clover silages affects milk fatty acid composition. *Journal of Animal Feed Science*, 16(Suppl.), 65–69.

**VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B., and LEWIS, B. A. 1991.** Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J. Dairy Sci.* 74 (10): 3583- 3597.

**VANHATALOA A, KUOPPALA K, TOIVONEN V and SHINGFIELD KJ. 2007.** Effects of forage species and stage of maturity on bovine milk fatty acid composition. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109: 856–86

**VAN DORLAND H.A, WETTSTEIN H.R, AESCHLIMANN G, LEUENBERGER H, AND KREUZER M. 2007.** Preference of dairy cows for ryegrass, white clover and red clover, and its effects on nutrient supply and milk quality. *archives of animal nutrition.* 61(5): 371 – 389

**WARD, A.T., WITTENBERG, K.M., FROEBE, H.M., PRZYBYLSKI, R. AND MALCONLMSON, L. 2003.** Fresh forage and Solin Supplementation on Conjugated Linoleic Acid Levels in Plasma and Milk. *J. Dairy Sci.* 86: 1742-1750.

**YAMASAKI M, KISHIHARA K, IKEDA I, SUGANO M, YAMADA K. A . 1999.** Recomendend Esterification Method for Gas Chromatographic Measurement of Conjugated Linoleic Acid. *JAOCS* 76, 933-938.



## 5. Conclusiones y recomendaciones

El propósito del presente estudio fue determinar el efecto de la inclusión de leguminosas en pasturas de trópico alto sobre el perfil de ácidos grasos de la leche. Para ello se ejecutaron dos experimentos de manera independiente en cada uno de los cuales se evaluó una leguminosa diferente (*L. uliginosus* y *Trifolium pratense*).

La literatura sugiere que la presencia de metabolitos secundarios en algunas leguminosas que se utilizan frecuentemente en los sistemas de producción de leche pueden generar cambios en la biohidrogenación ruminal y así modificar el perfil de ácidos grasos de la leche.

Los taninos presentes en la leguminosa *L. uliginosus* pueden generar cambios selectivos en las poblaciones ruminales, de manera que se reducen aquellos tipos de bacterias con capacidad de biohidrogenación de los ácidos grasos. Esto resulta en un mayor flujo de ácidos grasos insaturados de la dieta hacia el duodeno y posteriormente su incorporación en leche y carne. El efecto de esta leguminosa sobre el perfil de ácidos grasos de la leche se evidenció en el presente trabajo, ya que las vacas que consumieron esta pastura en asociación con *P. clandestinum* presentaron mayor contenido de ácido linoleico y linolenico en la leche. Adicionalmente, se presentaron cambios en los ácidos grasos impares, que son producto de la síntesis de los microorganismos. Este efecto no se vio cuando la leguminosa se incorporo en la pastura con *F. arundinacea*, esto se explica por la mínima proporción de la leguminosa dentro de la pastura. Se considera una buena proporción de leguminosa en la pastura cuando esta supera el 30%. Este efecto se vio reflejado en el consumo de materia seca, producción y composición de leche, en las vacas que consumieron la pastura *P. clandestinum* + *L. uliginosus*.

Las fallas en el establecimiento de la leguminosa dentro de la pastura de *F. arundinacea* se debió a errores en las prácticas culturales de manejo de pasturas,

principalmente en el uso de herbicidas selectivo que no presentaron los resultados esperados. Se recomienda para futuros experimentos mejorar el establecimiento de la leguminosa en pasturas de *F. arundinacea* de manera que se puede ver el efecto en diferentes especies de gramíneas. Para efectos de este trabajo, las pasturas fueron evaluadas de manera independiente.

La evaluación con *Trifolium pratense* en pasturas de *P. clandestinum* no evidenció cambios significativos en el perfil de ácidos grasos insaturados en la leche mas allá del ácido linoleico conjugado, sin embargo el contenido de ácidos grasos pares de cadena corta fue mayor en la leche de las vacas que consumieron la asociación así como la sumatoria de ácidos grasos saturados. Se destaca nuevamente el mayor contenido de ácido linoleico conjugado en la leche producida en pasturas puras de *P. clandestinum*.

La literatura generaba evidencias que *T. pratense* podía incrementar el contenido de ácidos grasos insaturados en la leche, a través de una reducción de la lipólisis y posterior biohidrogenación de ácidos grasos en el rumen. Este efecto se relacionó a la presencia de la polifenol oxidasa en esta leguminosa. Este metabolito tiene la capacidad de reducir la lipólisis ruminal de ácidos grasos a través de un mecanismo de protección de los ácidos grasos frente a las lipasas microbiales, sin embargo la acción de este metabolito requiere de una activación previa que se logra a través del marchitamiento o daño mecánico, que se genera durante el proceso de ensilaje y oreo. La activación en pastoreo presenta una limitante de tiempo lo cual reduce la acción de la polifenol oxidasa sobre los ácidos grasos.

El daño logrado durante la masticación no resultó suficiente para lograr una activación completa del metabolito presente en el trébol rojo, este efecto si es significativo cuando las vacas se alimentan con ensilajes de trébol rojo.

En el presente trabajo por tratarse de pastoreo, que es como se maneja tradicionalmente esta leguminosa en Colombia, no se vio el efecto reportado en la literatura, adicionalmente al parecer se requiere de una mayor proporción de la leguminosa en la pastura para encontrar un efecto significativo sobre los ácidos grasos, a pesar que en el presente trabajo la proporción de la leguminosa estuvo sobre el 30%, lo cual se vio reflejado en producción y composición de la leche.



---

Se recomienda establecer estudios que permitan establecer la actividad de la polifenol oxidasa en el trébol rojo presente en Colombia, ya existe evidencia que existen diferencias en la actividad de este metabolito secundario por efecto de las



