



## Manejo nutricional para la producción de leches con alto impacto sobre la salud humana.

Gerardo A. Gagliostro (<sup>1</sup>)

(<sup>1</sup>) Ing. Agr., Master Sc., Ph.D. Investigador. INTA EEA Balcarce, Area de Producción Animal. E-mail :

ggagliostro@balcarce.inta.gov.ar

### Resumen

La imagen saludable de la grasa butirosa (GB) debe revalorizarse ya que la misma contiene ácidos grasos (AG) con propiedades altamente favorables sobre la salud humana. Una alimentación estratégica de la vaca puede permitirnos reducir en forma natural la fracción hipercolesterolémica de los lácteos y amplificar la presencia de los AG saludables. El riesgo cardiovascular asociado al consumo de AG trans presentes en los aceites parcialmente hidrogenados (margarinas) debe diferenciarse (molecular y funcionalmente) de los AG trans presentes en los lácteos. En los primeros predomina el ácido elaidico (aterogénico) mientras que en los lácteos predominan el ácido trans vaccénico y los ácidos linoleicos conjugados (CLA) que poseen propiedades benéficas sobre la salud humana. Los CLA resultan predominantemente consumidos vía lácteos y actúan en prevención del cáncer, en la atenuación de aterosclerosis y de diabetes tipo 2 propiedades demostradas en modelos experimentales de laboratorio y en células cancerígenas humanas (in vitro). El concepto de alimentos funcionales alto CLA, su aplicación en un contexto de alimentación saludable, la cuantificación del consumo de CLA en el ser humano y los potenciales efectos benéficos sobre la salud de los consumidores son revisados en el presente artículo. Los precursores de los CLA son los AG poliinsaturados (AGPI) como el ácido linoleico (C18:2) y el ácido  $\alpha$ -linolénico (C18:3). La concentración de los CLA en leche cruda es el factor determinante de un alto consumo de CLA por parte del ser humano y de su concentración en el producto transformado: leche pasteurizada, manteca, yogurt, queso. La concentración inicial de CLA es a su vez dependiente del manejo nutricional del animal involucrado. La alimentación pastoril resulta predisponente a obtener altos valores basales de

CLA los que pueden aún ser amplificados mediante una suplementación estratégica. El aporte de suplementos ricos en C18:2 es la vía más efectiva para incrementar los valores de CLA en leche. Inhibidores naturales de la biohidrogenación del trans-11 C18:1 (ácido trans vaccénico, TVA) precursor de los CLA como los ácidos  $\nu$ -3-EPA y sobre todo  $\nu$ -3-DHA pueden potenciar el efecto citado. Para que el suministro de granos oleaginosos completos resulte efectivo los mismos deberán ser molidos a fines de facilitar un contacto rápido y eficaz entre el aceite y las bacterias ruminales.

### I) Introducción.

La leche y los derivados lácteos representan una fuente valiosa de nutrientes como las proteínas, la energía, el calcio, las vitaminas y otros minerales. El término genérico de alimento funcional se utiliza para identificar alimentos y/o componentes de los mismos que poseen propiedades adicionales sobre la salud de los consumidores que superan al beneficio clásico de un aporte de nutrientes (Milner, 1999). Existe un reconocimiento general de que ciertos alimentos ejercen una acción preventiva frente a la aparición de ciertas enfermedades en el ser humano y la investigación se orienta actualmente hacia una "obtención natural" de dichos alimentos. La grasa de la leche (GB) contiene AG reconocidos como "agentes estimuladores" de la salud y la modificación del perfil de AG de la GB vía suplementación de la vaca puede aún incrementar esas propiedades benéficas. Dicha modificación resulta de interés debido a las propiedades que se le atribuyen a los CLA los que resultan predominantemente consumidos en los productos lácteos (Chilliard y otros, 2000, Parodi, 1999). Los efectos potencialmente favorables de los CLA sobre la salud se resumen en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Algunos efectos benéficos de los CLA a partir de estudios biomédicos sobre animales de laboratorio.

#### Efecto biológico

Anticancerígeno ( estudios in vivo e in vitro).

Anti aterogénico.

Alteración de la repartición de nutrientes y el metabolismo de los lípidos.

Antidiabéticos (diabetes tipo 2)

Efectos positivos sobre la respuesta inmunitaria

Favorecimiento de la mineralización ósea

(Bauman y otros, 2001).

Los CLA representan una mezcla de isómeros del ácido linoleico (C18:2) y la forma biológicamente activa de los CLA estaría representada por el isómero cis-9, trans-11 CLA (también llamado ácido ruménico, AR) que representa entre el 75 al 85% del total de CLA en leche (Bauman y otros, 2001, Stanton y otros, 2003). En orden de importancia le sigue el isómero cis-9, trans-7 CLA que representa un 10% del anterior (cis-9, trans-11 CLA). Luego le sigue el isómero cis-12, trans-10 CLA cuya presencia en leches naturales es muy baja (Bauman y otros, 2001). Este último isómero (trans-10 cis-12 CLA) ha sido asociado a una menor acumulación de tejido adiposo (efecto anti-obesidad no claramente demostrado aún en el ser humano) y a hiperinsulinemia e hiperglucemia en roedores. El isómero cis-9, trans-11 CLA estaría asociado a la prevención del

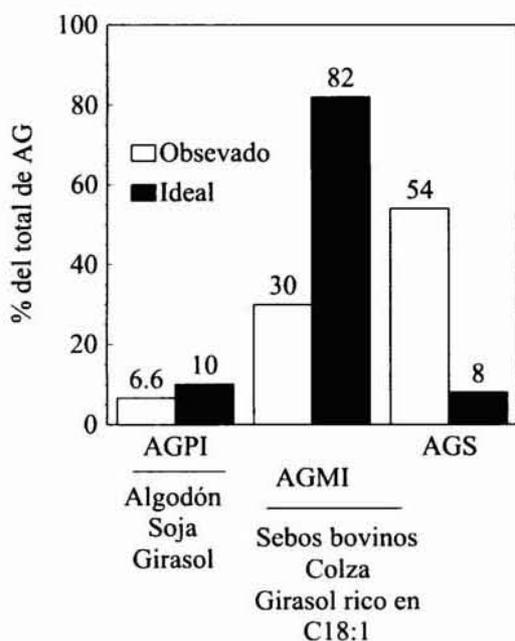
cáncer (Ip y otros, 1999).

## II) Revalorizando el valor saludable de los lácteos.

Los AG de la leche (y carnes de rumiantes) son el blanco de críticas por parte de especialistas en nutrición humana debido a su contenido relativamente alto en AG saturados capaces de elevar el colesterol plasmático "malo" asociado a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Banni y otros, 2002). Este aspecto resulta de importancia ya que según los hábitos alimenticios y el poder adquisitivo de la población los lácteos pueden aportar entre un 25 a un 60% del total de grasa saturada que un ser humano consume diariamente.

Aún en sistemas de producción base pastoril, la composición en AG de la GB (Figura 1) dista de ser ideal debido al exceso en AG saturados y a un déficit en AG mono y AGPI (Gagliostro, 2001) juzgados como más adecuados en nutrición humana (Schrezenmeir y Jagla, 2000).

La relación óptima recomendada entre los AGPI y los AGS en nutrición humana es de 0,45. Tal relación resulta de tan sólo 0,18 en la leche bovina (Figura 1) siendo de 0,11 en la carne bovina y de 0,15 en la carne ovina (Geay y otros, 2002). Los valores promedio registrados en los productos lácteos y cárneos se encuentran por lo tanto alejados del ideal.



**Figura 1.** Composición de la grasa butirosa en ácidos grasos juzgada dietéticamente como ideal (Grumer, 1991) y composición observada en la Argentina (Maritano y otros, 1986). AGPI = ácidos grasos (AG) poliinsaturados. AGMI = AG monoinsaturados. AGS = AG saturados.

Esta "mala" imagen de la GB (y en consecuencia de los lácteos) debería atenuarse y ser reconsiderada a la luz de los avances en el conocimiento de los factores protectores e inductores involucrados en el llamado riesgo cardiovascular y también en el cáncer. En primer término mencionaremos que el consumo de AG de cadena corta a media (C4:0 a C10:0 que representan de un 7 a un 10% del total de AG de la leche) no conduce a elevaciones en el colesterol circulante (Ulbricht y Southgate, 1991) ni estaría asociado a riesgos de muerte por afecciones coronarias (Hu y otros, 1999). Los AG contraindicados son los ácidos láurico (C12:0), mirístico (C14:0) y palmítico (C14:0) que resultan ser los más peligrosos (Ulbricht y Southgate, 1991) cuando son consumidos en exceso ya que elevan el colesterol plasmático total y el colesterol asociado a las LDL (Schrezenmeir y Jagla, 2000, Legrand y otros, 2001). El ácido mirístico presenta el mayor potencial aterogénico ya que tiene un efecto cuatro veces más fuerte que el palmítico sobre los niveles plasmáticos de colesterol (Ulbricht y Southgate, 1991). Los resultados obtenidos en la EEA Balcarce del INTA demostraron que la suplementación de la vaca permite reducir la concentración de los AG aterogénicos en un 63% para el C12:0, un 51% para el C14:0 y un 29% para el C16:0 (Gagliostro y otros, 2006 y Figura 3). El suministro de una manteca producida en la Universidad de Auckland (Nueva Zelanda) con menor cantidad de los ácidos mirístico (12,0 vs 8,3%) y palmítico (31,5% vs 18,8%) en relación a los ácidos oleico (18,6 vs 30,0) y linoleico (1,2 vs 7,2%) redujo significativamente el colesterol total (-7,8%) y el asociado a las LDL (-9,5%) en hombres de buena salud sin una disminución paralela en el HDL colesterol "bueno". Los autores concluyeron que el riesgo cardiovascular puede ser exitosamente reducido en humanos a través de cambios moderados en el perfil de AG de un alimento natural bien aceptado como la manteca (Poppit y otros, 2002).

El ácido esteárico (C18:0), importante en la carne y leche (un 10% del total de AG) de rumiantes, es considerado como neutro (sin peligro) (Ulbricht y Southgate, 1991) o aún con efecto positivo sobre la salud humana en base a los resultados obtenidos utilizando hamsters alimentados con raciones ricas en colesterol. En este modelo experimental, una suplementación con C18:0 redujo en un 21% la absorción de colesterol dietario y duplicó la tasa de excreción de colesterol endógeno (Schneider y otros, 2000). El ácido oleico (C18:1 cis 9), principal mono insaturado cis en los lípidos de la carne y que representa de un 28-30% del total de AG en los lácteos, es un protector contra la aterogénesis debido a sus propiedades benéficas sobre la composición de los lípidos plasmáticos (Legrand y otros, 2001).

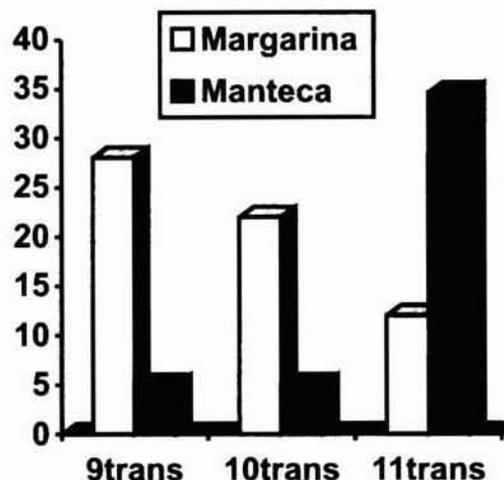
Los AG trans han sido denominados sustancias no naturales debido a que los mismos son producidos durante la hidrogenación de los aceites naturales para fabricación de margarinas (Mensink, 2002). Son AG insaturados con al menos una doble ligadura en la configuración trans



lo que les confiere un ángulo mayor de ligadura respecto a los isómeros cis. La cadena carbonada resulta en consecuencia más extendida y se parece más a los AG saturados que a los insaturados de configuración cis. Esta propiedad les confiere una mayor tendencia a la adhesión o alineamiento de las cadenas carbonadas lo que resulta a su vez en una menor movilidad del ácido graso (aterosis). Esto implica una menor fluidez en comparación a los isómeros que contienen una doble ligadura de tipo cis. La hidrogenación parcial de los aceites poliinsaturados (que constituye la base de fabricación de las margarinas) trae como consecuencia un enriquecimiento de los isómeros trans y con ello una grasa más peligrosa para el ser humano. En efecto, existe una correlación positiva entre el consumo de AG trans y las concentraciones plasmáticas del colesterol "malo" asociado a las LDL. Se ha demostrado a su vez una relación dosis-respuesta dependiente y positiva entre el consumo de los AG trans y la relación LDL/HDL con el agravante de que la magnitud del efecto resultó aún mayor para los AG trans que para los AG saturados (Ascherio y otros 1999). Los isómeros trans de los ácidos oleico y linoleico han sido juzgados como negativos tanto para el crecimiento fetal como para el crecimiento y desarrollo en la niñez debido a un efecto inhibidor sobre la desaturación del ácido linoleico y del -linoléico para la formación de los ácidos C20:5 n3 (EPA) y C22:6 n3 (DHA) llamados araquidónico y docohexanoico respectivamente (Institute of Medicine 2002). Los AG trans son transportados en los ésteres de colesterol y en las fracciones triglicéridos y fosfolípidos de las lipoproteínas y están presentes en alimentos que contengan margarinas, en la leche, la manteca y las carnes. Si bien el llamado Nivel de Consumo Máximo Tolerable de AG trans debería ser de cero, alcanzar el mismo resulta impracticable debido a su presencia en alimentos indispensables para el ser humano como las carnes y leches.

Resulta importante considerar y diferenciar la naturaleza y las propiedades funcionales de los distintos isómeros trans según provengan de los aceites vegetales hidrogenados (margarinas) o de productos naturales como la manteca. En las margarinas la concentración total de trans-C18:1 alcanza valores cercanos al 60% del total de AG mientras que en la manteca dicho valor promedio es del 5%. Durante el proceso industrial de hidrogenación de aceites se obtiene un amplio rango de concentración de isómeros trans-C18:1 siendo el ácido elaídico (9trans-C18:1) el principal monoinsaturado trans (Figura 2) cuyos efectos negativos sobre el colesterol plasmático y la incidencia de enfermedades cardiovasculares en el ser humano es un hecho aceptado.

En los lácteos, predomina en cambio el ácido transvaccénico (ATV, 11trans-C18:1) que representa un 50% del total de isómeros trans (Figura 2). Otros isómeros trans presentes en los lácteos como los CLA parecen no ejercer efectos negativos o inclusive positivos sobre la salud humana (ver Cuadro 1). El rol del trans11-C18:1 como



**Figura 2.** Distribución porcentual de los ácidos grasos trans-C 18:1 (% del total de trans-C 18:1) en los aceites vegetales parcialmente hidrogenados (margarinas) y la manteca.

Fuente : International Dairy Federation 393/2005

metabolito precursor para síntesis del CLA fue considerado como favorable en los estudios asociados a salud humana (Mensik, 2002; Banni y otros, 2002). La tasa de metabolización de los AG trans contenidos en los lácteos y en las carnes sería superior que la de los aceites vegetales hidrogenados y por lo tanto presentarían un menor grado de riesgo para la salud humana (Aro y Salminen, 1998). Hasta el presente, la evidencia de los efectos desfavorables de los AG trans presentes en los aceites parcialmente hidrogenados sobre las LDL y los parámetros aterogénicos en el ser humano es sólida pero tales evidencias no son extrapolables al trans11-C18:1 presente en los lácteos. A la inversa de la correlación positiva que existe entre el consumo total de AG trans no naturales y el riesgo cardiovascular, se ha demostrado una correlación negativa (o nula) entre dicho riesgo y el consumo de lácteos o mantecas (International Dairy Federation 393/2005).

Ya que resulta posible incrementar significativamente la concentración de trans11-C18:1 y de CLA en los lácteos bovinos y caprinos (Gagliostro, 2004bc) las áreas de investigación actuales sobre el tema apuntan a responder las siguientes preguntas :

- 1) ¿Cuáles son realmente los AG trans responsables de los efectos negativos sobre salud humana?
- 2) ¿es el consumo de ATV en sí mismo un factor negativo (como el caso del elaídico de las margarinas) asociado a riesgo cardiovascular?
- 3) Aún aceptando que lo fuera, ¿su rol como precursor del CLA y sus otros efectos positivos no induciría un efecto global positivo sobre la salud humana?

Parece importante entonces redefinir el concepto de grasa trans aplicado a los alimentos en general evolucionando

nando desde la actual definición estrictamente bioquímica hacia otra basada en las funciones asociadas a parámetros de riesgo metabólico para el ser humano. En los países Europeos el debate está también planteado y en Dinamarca (1º de junio del 2003) se limita el contenido de AG trans en grasas y aceites a un máximo de 2% pero explícitamente se excluye a los AG trans naturales presentes en los productos de origen animal.

Los ácidos linolénico (C18:3 n-3 y derivados) y linoleico (C18:2 n-6 y derivados) son AG esenciales ya que los mismos son sintetizados por las plantas pero no por los mamíferos. Deben por lo tanto ser aportados por la alimentación y juegan un rol de precursores para la síntesis de AGPI de cadena más larga e insaturados de la serie n-3 y n-6 respectivamente. El C18:2n-6 es esencial para el crecimiento y la reproducción. El C18:3n-3 es esencial para las funciones del cerebro y la retina (Geay y otros, 2002). En el hombre, estudios epidemiológicos y experimentales han demostrado que los ácidos  $\omega$ -3 eicosapentanoico (EPA, C20:5 n-3) y docosahexanoico (DHA, C22:6 n-3) presentan propiedades hipo-colesterolémicas, anti-trómbicas, anti-inflamatorias e inmuno supresoras (Williams, 2000). En salud humana resulta más conveniente utilizar el concepto de relación entre los AG insaturados de la serie n-3 y n-6 que la concentración individual absoluta de los mismos en la ración. Una relación w6/w3 entre 5 y 2 resultaría óptima para la alimentación humana (Okuyama e Ikemoto, 1999, citados por Geay y otros, 2002). La presencia de estos AG en leche y sus relaciones es también modificable vía alimentación de la vaca o cabra (Gagliostro, 2004abc).

### III) Los CLA integrados en alimentos funcionales.

Aunque la presencia de los CLA en la leche de rumiantes resulta conocida desde el año 1930 sus propiedades biológicas permanecieron ocultas durante unos 60 años y entre los 28 isómeros posibles de los CLA sólo dos (cis-9, trans-11 y trans-10 cis-12) han sido estudiados (Banni y otros, 2002). Pequeñas cantidades de AG trans y también de CLA están presentes en la dietas del ser humano y sus propiedades benéficas se manifestarían aún a concentraciones muy bajas (0,5 a 1%) en la ración (Banni y otros, 2002). El reconocimiento de los CLA como componentes funcionales de los alimentos se produce en forma accidental cuando se descubren sus propiedades antimutagénicas en la carne bovina cocida buscando por el contrario agentes mutagénicos en la misma (Parizza, 1999). Las estimaciones del consumo de CLA en el ser humano oscilan entre entre 0,3 a 1,5 gramos por persona y por día (Cuadro 2) observándose los mayores consumos en aquellos países donde la leche y la carne son producidas bajo condiciones de pastoreo.

*Cuadro 2. Consumo diario estimado de CLA (mg) en diferentes países*

País	Rango de consumo de CLA
Australia	500-1500
Alemania	Hombres : 430 Mujeres : 246-350
Suecia	160
USA	Hombres : 3-486 Mujeres : 1-399 Hombres : 0-516 Mujeres : 0-300

Fuente : Parodi, 2003.

La ingestión diaria de CLA con los alimentos convencionales puede resultar insuficiente para que los mismos puedan expresar sus potenciales efectos bioquímicos, moleculares y fisiológicos contra el cáncer, aterosclerosis y obesidad (Watkins y Li, 2003). Una adecuada alimentación del rumiante (vaca, cabra, novillo) puede permitirnos lograr sustanciales incrementos de CLA en el producto y desarrollar así los alimentos funcionales. Un aspecto de importancia práctica y no claramente dilucidado aún reside en la estimación de la cantidad efectiva mínima de compuesto (CLA) a consumir diariamente por un ser humano para obtener un efecto terapéutico o protector sobre la salud. En animales de laboratorio (ratas) se demostró que con concentraciones muy bajas de CLA en la ración total (0,1% de CLA) se lograba disminuir significativamente el número de tumores mamarios cancerígenos (Ip y otros, 1994). Para una rata de unos 350 g de peso vivo el consumo diario preventivo de CLA sería del orden de 0,015 g. Una ingestión equivalente de CLA en el ser humano utilizando el peso metabólico en el cálculo permite proponer que un consumo diario de 0,8 g/día de CLA podría ejercer un efecto terapéutico sobre el cáncer en una persona de unos 70 kg de peso vivo (Watkins y Li, 2003). Cabe comentar que el consumo juzgado preventivo de CLA sería aún unas diez veces menor al enunciado (Dr. D. Bauchart, INRA Clermont Ferrand-Theix, comunicación personal).

Los efectos reductores sobre la aterosclerosis se alcanzarían a partir de consumos diarios cercanos a los 0,25 g de CLA y los efectos adelgazantes o anti-obesidad no están claramente establecidos ni aceptados aún en el ser humano. Las estimaciones existentes de consumo diario de CLA se encuentran en general por debajo de los valores mencionados salvo en países como Australia (Cuadro 2) donde predominan sistemas pastoriles de producción de carne y leche. El nivel de consumo diario de CLA aconsejable sería más fácil de alcanzar si logramos enriquecer naturalmente los productos de origen animal (carnes, leches y derivados) en CLA. Si tomamos por ejemplo los valores de concentración mínimos (0,53 g/100g de grasa) y máximos (1,58 g/100 g de grasa) de CLA observados



en los quesos de Francia, un contenido de grasa del orden del 50% para esos quesos y un tenor de materia seca del orden de 60 % puede calcularse que sólo el consumo diario de queso promedio por habitante en Francia (80 g) podría satisfacer entre el 16 y el 48% del requerimiento diario de CLA. Si los potenciales efectos benéficos de los CLA son tenidos en cuenta en conjunto (cáncer, aterosclerosis, diabetes, obesidad) el interés de trabajar en el desarrollo de lácteos funcionales resulta evidente. Puesto que la leche de rumiantes resulta la fuente más importante de CLA en el ser humano las condiciones más propicias de alimentación de los animales para lograr leches crudas alto CLA es un tema de investigación actual en la Estación Experimental Balcarce del INTA. El objetivo es aumentar la calidad integral de los alimentos y valorizar la producción agropecuaria mediante la diferenciación de productos (Convenio Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (SeCTIP)-INTA).

Investigadores de la Universidad de Iowa (Parrish y otros, 2003) han tratado de cuantificar el consumo diario

de CLA en una persona que ingiere alimentos no enriquecidos en CLA para conocer cuan lejos se encuentra dicho consumo respecto al nivel terapéutico de 800 mg/día de CLA para el ser humano. Sus cálculos indicaron que dicho consumo estaría situado en tan sólo 150 mg/día de CLA representando por lo tanto un 19% de lo requerido (Cuadro 3). Luego utilizaron estrategias de alimentación de los animales para lograr carnes, leches y huevos enriquecidos en CLA. El consumo de esta nueva "dieta con alimentos funcionales alto CLA" permitió alcanzar una ingestión de CLA del orden de 693 g/ (un 87% del requerimiento diario de CLA). El nuevo valor registrado resultó ahora muy cercano a la dosis protectora buscada (Cuadro 3).

En el Cuadro 3 puede observarse que la leche es el principal alimento proveedor de CLA para el ser humano aportando un 85% del consumo total de CLA en una dieta normal y el 47% en una dieta funcional alto CLA. Puede concluirse también que una manipulación en la alimentación de los animales puede permitirnos alcanzar los niveles de consumo terapéutico-preventivos del CLA a través del desarrollo de ali-

**Cuadro 3.** Estimación del consumo diario de ácido linoleico conjugado (CLA) ante la ingestión de alimentos convencionales o naturalmente enriquecidos en CLA.

Alimento	Consumo Diario (g)	CLA Normal (mg/g grasa)	CLA Enriquecido (mg/g grasa)	CLA dieta normal (mg)	Dieta alto CLA (mg)
Carne vacuna <sup>(1)</sup>	80,7	4,3	12,4	19,1	55,0
Carne de cerdo <sup>(2)</sup>	61,1	0,6	7,1	1,5	17,4
Carne de pollo <sup>(3)</sup>	64,2	0,9	17,8	1,7	34,3
Leche <sup>(4)</sup>	726	5,5	14,1	127,7	327,5
Huevos <sup>(5)</sup>	0,66	0,0	87,0	0,0	258,4
Consumo total de CLA <sup>(6)</sup>	-	-	-	150	692,6

(1) 5,5% de grasa (2) 4% de grasa (3) 3% de grasa (4) 3,2% de grasa (5) 4,5 g de grasa por huevo. El consumo diario de carne de pavo (17,7 g) no fue incluido en la tabla por el autor.

Fuente : Parrish y otros, 2003.

**Cuadro 4.** El contenido de CLA (mg/g de grasa) en la leche humana

País	Fuente	N°	Mín.	Máx.	Promedio
Australia	Madres convencionales	18	3,1	8,5	5,8
	Madres Hare Krishna	8	9,7	12,5	11,2
Canada		103	1,0	7,0	4,0
USA	Madres de Idaho	14	2,2	5,4	3,6
	Madres de Connecticut	5	1,4	2,8	1,8
	Idaho (dietas bajo CLA)	16	0,9	3,5	2,3
Alemania	Idaho (dietas alto CLA)	16	1,9	4,9	3,8
		29	2,9	7,1	4,0
		40	2,3	6,3	4,0

Fuente : Parodi, 2003.

mentos funcionales alto CLA. El impacto que sobre la leche materna humana puede tener el hecho de consumir productos lácteos alto CLA se presenta en el Cuadro 4.

El contenido de CLA en la leche materna humana es de importancia al proteger a la mujer del cáncer mamario y ejercer efectos saludables sobre el lactante. Dicho contenido puede variar desde un mínimo de 0,09 g/100 g de AG en mujeres de USA (Idaho) hasta un máximo de 1,25 g/100 g en mujeres Australianas (Cuadro 4). La diferencia poblacional (+205%) estaría explicada por un consumo de lácteos ricos en CLA en Australia debido al sistema predominante pastoril de alimentación de las vacas (Parodi, 2003). Las madres de la secta religiosa Hare Krishna consumían una dieta que si bien excluía la carne, incluía cantidades a voluntad de manteca y lácteos. Las mujeres de Idaho participaron de un ensayo cross-over con bajo y alto contenido de lácteos en la dieta. La alimentación pobre en lácteos produjo una concentración de 0,23 g de CLA/100g de grasa en la leche materna valor que fue incrementado en un 65, % por la dieta rica en lácteos. La diferencia entre las madres Australianas y las Americanas se explica una vez más por las concentraciones de CLA en los lácteos australianos que duplican o triplican a los valores observados en los productos americanos (Parodi, 2003). Estudios recientes sugieren la existencia de una asociación positiva entre el consumo de CLA y la disminución del riesgo de contraer cáncer mamario en mujeres postmenopáusicas (Aro y otros, 2000). El trabajo mencionado concluye que al menos para este tipo de cáncer el consumo regular de productos alto CLA puede constituir una importante medida preventiva en el ser humano. En otro trabajo se informó sobre una disminución en la proliferación de células humanas cancerosas en función a diferentes dosis de leche bovina naturalmente enriquecida en CLA (O'Shea y otros, 2000). Un estudio realizado en Finlandia (25 años de datos, 4697 mujeres censadas) demostró una asociación positiva entre el consumo de leche y la disminución del cáncer mamario. Las mujeres con más alto consumo de leche presentaron un 66% menos de probabilidad de contraer cáncer mamario y esta conclusión no cambio cuando los datos fueron ajustados por covariable en función a número de partos, condición de fumador e índice de gordura corporal (ver Gagliostro, 2004a). Los estudios sobre prevención del cáncer utilizando métodos in vivo o cultivos celulares in vitro sugieren que el agente anticancerígeno activo de la leche sería sin duda el CLA (Ip y otros, 1995; Thompson y otros, 1997). Un estudio realizado en Francia sobre el contenido en CLA de tejido adiposo mamario humano (261 mujeres con cáncer mamario localizado y 99 con tumores incipientes) reveló que el cis-9 trans-11 CLA fue el isómero más abundante (85% de total de CLA). El contenido de CLA fue mayor en el tejido adiposo mamario de mujeres sin cáncer lo que indicaría un efecto protector del cis-9 trans-11 CLA sobre la enfermedad (ver Banni y otros, 2003).

#### IV) La alimentación pastoril: un escenario favorable para la obtención de lácteos alto CLA.

El hecho de que una alimentación pastoril resulta predisponente a obtener leches enriquecidas en dienos conjugados ha sido demostrado hace ya más de 40 años (Kudzdal- Savoie y Kudzdal, 1961, Riel, 1963). Numerosos trabajos han destacado el enorme impacto que la alimentación pastoril tiene sobre los valores basales de CLA en leche cuando se los compara a los obtenidos en condiciones de alimentación invernala o estabulada sin forraje fresco (Chilliard y otros, 2000; Chilliard y otros, 2001; Chilliard y otros, 2002; Stanton y otros, 2003; Schroeder y otros, 2004). En un trabajo reciente conducido en la EEA Balcarce del INTA, los niveles de CLA en leche fueron incrementados en un 54% y en un 173% a las dos y cinco semanas de alimentación pastoril respecto a vacas alimentadas con raciones totalmente mezcladas (TMR) sin pastura. Dichos incrementos resultaron de 148% y de 366% a las dos y cinco semanas de alimentación pastoril cuando las vacas recibieron además de la pastura una suplementación con sales cálcicas de AG (0,8 kg/vaca/día) conteniendo un 30% de C18:2 (Schroeder y otros, 2003) (Cuadro 5).

*Cuadro 5. Efecto de la alimentación pastoril (P) con (P+Lip) y sin suplementación lipídica (P+Ma) sobre los valores de CLA en leche de vaca.*

	TMR	P+Ma	P+Lip
<b>Ración</b>			
MS, %	40,8	33,0	31,5
PB, % MS	16,5	16,9	17
FDN, %MS	30,6	28,6	29,7
EE, % MS	4,5	6,1	8,1
<b>Respuesta productiva</b>			
Consumo, kg MS/vaca/día	23,7	1,70	1,76
Leche, kg/vaca/día	20,2	19,2	20,2
LGC4%, kg/vaca/día	19,5 <sup>a</sup>	17,8 <sup>ab</sup>	16,1 <sup>c</sup>
Grasa butirosa, %	3,91 <sup>a</sup>	3,45 <sup>b</sup>	2,56 <sup>c</sup>
CLA semana 2, % AG	0,53 <sup>a</sup>	0,80 <sup>b</sup>	1,29 <sup>c</sup>
CLA semana 5, % AG	0,41 <sup>a</sup>	1,12 <sup>b</sup>	1,91 <sup>c</sup>

a,b,c : dentro de fila promedios con distinta letra difieren estadísticamente en tre si ( $P < 0,05$  o mayor). TMR = silaje de maíz (58,7%), grano de maíz (18%), harina de girasol (21,9%), urea (0,5%), minerales (0,9%). P+Ma = pastura de avena (73,5%), grano de maíz (24,1%), harina de pescado (1,3%), minerales (1%). P+Lip = pastura de avena (76,7%), grano de maíz (17,5%), harina de pescado (1,4%), minerales (1%), sales cálcicas de AG conteniendo 30% de C18:2 (3,3%). CLA = 9-cis, 11-trans C18:2

**Fuente :** EEA INTA Balcarce (Schroeder y otros, 2003).

Los resultados del Cuadro 5 demuestran que la alimentación pastoril resulta predisponente a obtener altos valores basales de CLA (0,80 a 1,12 g/100 g AG) los que pueden aún ser amplificados mediante una suplementación



estratégica de la vaca (1,29 y 1,91 g/100 g AG). Altos valores de los ácidos trans-11 C18:1 (5,8%) y CLA (1,8%) han sido encontrados en alimentación pastoril (Lawless y otros, 1999). Las concentraciones de los ácidos trans-11C18:1 y CLA se incrementaron hasta valores de 2,1% y 1,0% a las 4 semanas de alimentación pastoril alcanzando valores de 5,1% y 1,8% luego de 8 semanas en pastoreo respecto a los valores de pre-pastoreo de 1,2% y 0,4% (Loor y otros, 2002). El efecto del cambio de una alimentación no pastoril (silaje de gramíneas y concentrado) a una alimentación pastoril incrementó significativamente el contenido lácteo del trans-11C18:1 a los 8 días (+23%) y a los 29 días de pastoreo (+59%) respecto a los valores pre-pastoreo. Los valores de CLA en leche se incrementaron en 25% y 75% respectivamente. Cuando las vacas recibieron una suplementación con lípidos (7% de aceite de soja), el contenido lácteo de trans-11C18:1 aumentó en un 168% a los 8 días y 231% los 29 días de pastoreo. Los valores de CLA en leche se incrementaron en un 200% y en un 367% a los 8 y 29 días de pastoreo respectivamente (Agenäs y otros, 2002). Los resultados experimentales confirman nuestra hipótesis (Gagliostro, 2004b) de que aún en condiciones de alimentación pastoril resulta necesario suplementar estratégicamente a la vaca lechera a fines de maximizar el contenido de trans-C18:1 y CLA (9-cis, 11-trans C18:2) en la leche.

Según Griinari y Bauman (1999) el efecto enriquecedor de las pasturas sobre los niveles de CLA en leche son consecuencia del consumo de ácido linolénico proveniente del pasto, su posterior conversión en trans-11 C18:1 a nivel de rumen y la subsiguiente conversión a cis-9-trans-11 CLA por actividad delta-9 desaturasa mamaria.

Una alimentación pastoril podría no ser una condición suficiente a fines de asegurar una producción estable de leche enriquecida en CLA sin recurrir a suplementaciones estratégicas. La concentración lipídica en las pasturas y el porcentaje de ácido linolénico suele ser alto en crecimientos tempranos de primavera (forrajes muy tiernos) o al final del otoño para decaer marcadamente con la madurez del forraje (Bauchart y otros, 1984). Resultados obtenidos en la Estación Experimental Balcarce del INTA han demostrado una importante disminución de los C18:2 y C18:3 de las pasturas al avanzar el estado vegetativo de las mismas y el consumo de pastura inmadura no incrementó el contenido de C18:2 en leche con tan solo un ligero aumento del contenido en C18:3. (Gonda y otros, 1992). Por otra parte, existen épocas del año como el invierno (y también el verano) en las cuales la participación de la pastura en la ración total de la vaca decae significativamente. El ingreso de forrajes conservados como el silaje de maíz puede atentar contra el objetivo de mantener un nivel alto y constante de CLA en leche a lo largo del año y una suplementación estratégica puede resultar por lo tanto necesaria.

Los ensayos pastoriles conducidos en la E.E.A. Balcarce del INTA también demostraron que es posible incrementar los niveles basales de CLA en leche a través de la suplementación de la vaca. Sobre verdes de avena se estudió el efecto del reemplazo parcial de grano de maíz por 0,9 kg/d de sales cálcicas insaturadas de AG (AGI-Ca) conteniendo un 30% de C18:2 en vacas lecheras de raza Holstein con 116 días en lactancia. Algunos resultados obtenidos se presentan en el Cuadro 6.

**Cuadro 6.** Producción y composición de la leche en vacas lecheras en lactancia media suplementadas (AGI-Ca) o no (Control) con 0,9 kg/d de sales cálcicas insaturadas de ácidos grasos (AGI-Ca) en condiciones de alimentación pastoril.

	Tratamiento		P <
	Control	AGI-Ca <sup>(1)</sup>	
Leche, kg/d	20,4	21,7	0,01
LGC4%, kg/d	17,1	17,5	0,11
Grasa butirosa			
Kg/d	0,61	0,60	0,22
%	3,08	2,72	0,01
Proteína en leche			
Kg/d	0,70	0,74	0,01
%	3,52	3,45	0,06
Lactosa			
Kg/d	0,98	1,07	0,01
%	4,94	4,93	0,74
Total AG cadena corta, %	9,03	6,51	0,01
Total AG cadena media, %	41,3	33,2	0,01
Total AG cadena larga, %	35,7	42,4	0,01
Saturados / Insaturados	2,25	1,57	0,01
<b>CLA, 9-cis 11-trans</b>	<b>1,25</b>	<b>1,97</b>	<b>0,01</b>

<sup>(1)</sup> AGI-Ca = C14:0 (1,6%), C16:0 (16%), C16:1 (1,6%), C18:0 (13,5%), C18:1 (32%), C18:2 (30%), C18:3 (0,8%) y C20:0 (0,3%).

Fuente : INTA E.E.A. Balcarce (Vidaurreta y otros, 2002a).

La producción de leche fue ligeramente incrementada (+6,4%) y la concentración grasa de la leche fue disminuída (-11,7%) por el aporte de AGI-Ca. La concentración de AG de cadena corta (-28%) y media (-19,6%) resultó disminuída y la de los AG de cadena larga aumentada (+18,7%). Los CLA en leche experimentaron un importante incremento de concentración respecto al grupo control (+57,6%).

La existencia de interacción entre el tipo de pastura (gramíneas vs leguminosas) y la suplementación tendiente a elevar las concentraciones de CLA en leche no ha sido estudiada. Un ségundo experimento de suplementación con AGI-Ca sobre los niveles de CLA en leche fue conducido sobre pasturas de alfalfa utilizando vacas primíparas y múltiparas durante los primeros 60 días postparto. La producción de leche no difirió en las vacas múltiparas (25,8 kg/vaca/d) pero fue incrementada (+8,8%) por las AGI-Ca en las primíparas (22,2 kg/vaca-d) respecto a las control (20,4 kg/vaca/d). La producción de LGC4% fue inferior en las vacas múltiparas suplementadas con AGI-Ca (21,2 kg/vaca/d) respecto a las control (24,5 kg/vaca/d) debido a un menor contenido graso de la leche (35,3 vs 32,2 g/kg). En las vacas primíparas no se registraron diferencias en la producción de LGC4% o de GB. El perfil de AG obtenido a los 30 y 60 días de lactancia se presenta en el Cuadro 7.

La suplementación con AGI-Ca redujo la concentra-

ción de los AG sintetizados de novo (C4:0 a C14:1) e incrementó la de los AG insaturados (C18:1, C18:2 y C18:3). A los 60 días de lactancia la concentración basal de cis-9, trans-11 CLA obtenida en pasturas de alfalfa (1,86 g/100 g de AG) resultó un 49% más alta en comparación a la observada en verdes de avena (1,25g/100 g de AG, Cuadro 6). El aporte de AGI-Ca incrementó las concentraciones basales de CLA en tan sólo un 12,6% sólo en las vacas múltiparas. La reducción observada en los AG saturados (C12:0, C14:0 y C 16:0) es importante ya que como ya fue comentado estos AG incrementan los niveles plasmáticos de LDL colesterol. La eventual interacción entre tipo de pastura y la respuesta a la suplementación sobre los niveles de CLA en leche es un aspecto importante a estudiar con más detalle.

Como ya fue comentado, el aporte de granos oleaginosos ricos en C18 :2 puede constituir una alternativa de suplementación para incrementar los valores de CLA en leche. El aporte de 2 kg de grano de girasol molido en vacas lecheras en pastoreo de avena disminuyó la concentración de AG de cadena corta (C6 a C12) y media (C14 a C17) pero no se detectaron incrementos significativos en la concentración de CLA en la leche. La relación entre los AG saturados e insaturados resultó menor con el aporte de girasol (Cuadro 8).

**Cuadro 7.** Perfil de ácidos grasos en la leche de vacas múltiparas (VM) o primíparas (VP) suplementadas (AGI-Ca) o no (Control) con 0,8 kg por día de sales cálcicas de ácidos grasos.

	Día 30 postparto				Día 60 postparto			
	Tratamiento				Tratamiento			
	Control		AGI-Ca		Control		AGI-Ca	
	VM	VP	VM	VP	VM	VP	VM	VP
<b>AG (%)</b>								
C4:0	3,44	3,57 <sup>a</sup>	3,39	3,09	2,49	2,34 <sup>a</sup>	2,33	1,80 <sup>b</sup>
C6:0	2,17 <sup>a</sup>	2,07 <sup>a</sup>	1,72 <sup>b</sup>	1,42 <sup>b</sup>	1,74 <sup>a</sup>	1,62 <sup>a</sup>	1,30 <sup>b</sup>	0,90 <sup>b</sup>
C8:0	1,26a	1,13a	0,83b	0,62b	1,08a	1,02a	0,79b	0,46b
C10:0	2,34a	1,94a	1,39b	0,98b	2,38a	2,23a	1,50b	0,98b
C10:1	0,24a	0,19a	0,13b	0,10b	0,23a	0,21a	0,11b	0,06b
C12:0	2,60a	2,16a	1,59b	1,17b	2,66a	2,55a	1,74b	1,17b
C14:0	8,75a	7,59a	5,92b	4,61b	9,26a	8,87a	6,58b	4,87b
C16:0	25,9a	23,2a	21,9b	19,7b	24,7a	23,7a	21,1b	20,1b
C18:0	9,96	11,3	10,4	11,2	10,7	11,5	10,8	12,2
C18:1	28,2a	31,0a	31,8b	35,2b	21,0a	21,8a	24,0b	27,2b
C18:2	5,30a	5,4a	10,8b	10,3b	2,82a	2,75a	8,00b	8,18b
CLA	nd	nd	nd	nd	1,82a	1,90a	2,05b	1,97 <sup>a</sup>
C18:3	3,64a	2,97a	4,44b	4,27b	0,89a	0,99a	1,25b	1,22b
<b>Sat/Insat</b>	<b>58:41a</b>	<b>55:44a</b>	<b>49:50b</b>	<b>45:54b</b>	<b>66:33a</b>	<b>65:35a</b>	<b>56:44b</b>	<b>52:48b</b>

La interacción tratamiento por días de lactancia no fue significativa y la interacción tratamiento x categoría lo fue sólo para el C4:0.

nd = no determinado.

**Fuente :** INTA E.E.A Balcarce (no publicado)



**Cuadro 8.** Valores promedio del perfil de ácidos grasos de la leche en vacas control (Control) o suplementadas con 2 kg de semilla molida de girasol (Girasol).

AG, g/100g AG	Control	Girasol	P<
C4:0	2,63	2,65	0,9144
C6:0	1,97	1,72	0,0625
C8:0	1,28	0,99	0,0019
C10:0	2,91	1,99	0,0001
C10:1	0,37	0,24	0,0001
C12:0	3,51	2,30	0,0001
Total cadena -corta	12,69	9,92	0,0009
C14:0	11,05	7,88	0,0001
C14:1	1,15	0,81	0,0010
C14:0/C14 :1	10,03	10,11	0,9233
C15:0	1,13	0,84	0,0001
C16:0	23,28	18,47	0,0001
C16:1	1,64	1,32	0,0019
C16:0/C16:1	14,46	14,26	0,8044
C17:0	0,46	0,35	0,0001
Total cadena -media	38,73	29,68	0,0001
C18:0	11,17	15,08	0,0001
C18:1n9 trans	3,58	4,68	0,0002
C18:1n9cis	22,98	30,35	0,0001
C18:2n6trans	0,32	0,37	0,0542
C18:2n6cis	1,28	2,06	0,0001
C18:3n3	0,87	0,60	0,0001
CLA	1,56	1,69	0,2818
C22:0	0,08	0,09	0,2244
C20:3n6	0,06	0,05	0,1069
C20:4n6	0,12	0,11	0,0537
C20:5n3	0,18	0,11	0,0001
C22:5n3	0,15	0,10	0,0001
C18:0/C18:1	0,42	0,43	0,6412
Otros			
Total cadena larga	42,41	55,34	0,0001
Saturados : insaturados			
Relación AG	2,03	1,47	0,0001

**Fuente :** INTA E.E.A. Balcarce (Gagliostro y otros, 2004).

Dado que el girasol contiene cantidades muy bajas de C18:0 (3,34%), el incremento de C18:0 en el T2 sería el resultado de una importante biohidrogenación del C18:2 del girasol a nivel ruminal y su ulterior transferencia a la glándula mamaria. La concentración total de ácido oleico se incrementó en un 32,4% en las vacas suplementadas con semilla de girasol que recibieron unos 0,15 kg/día de C18:1 suplementario. Este efecto del grano de girasol es de importancia sobre la calidad nutracéutica de la leche si consideramos que el aporte de manteca fabricada a partir

de leche enriquecida en AG monoinsaturados se tradujo en cambios saludables en las fracciones lipídicas sanguíneas de pacientes con hipercolesterolemia (O'Callaghan y otros, 1996). La suplementación con semilla de girasol contribuyó a obtener una leche de mayor calidad dietética con propiedades benéficas para la salud del consumidor. Dicho incremento en el valor nutracéutico se manifestó a través de una disminución en la concentración de AG saturados de cadena media generadores de colesterol (C12 a C17), un incremento en las concentraciones y secreción

de monoinsaturados (C18:1), una disminución en la relación AG saturados/insaturados y valores relativamente elevados de CLA. La ausencia de un incremento significativo en la concentración de CLA en leche ante la suplementación con grano de girasol pudo estar asociada a una alta biohidrogenación ruminal del C18:2 suplementario. Se diseñó un experimento para evaluar el efecto de la suplementación con 0,8 kg/día de aceite de girasol (AG) o 2 kg de grano de girasol (GG) como fuente de C 18:2 para la síntesis de CLA combinado o no con 0,24 kg/día de aceite de pescado (AP) potente inhibidor de la biohidrogenación de los AG en el rumen. La inclusión de ambas fuentes de C18:2 (GG o AG) solos o en combinación con AP disminuyó la concentración de los AG sintetizados de novo. La reducción de concentración de los AG aterogénicos fue de 63% para C12:0, 51% para C14:0 y 29% para C16:0. El índice de aterogenicidad de la leche observado en pre-suplementación (basal) fue drásticamente reducido por la suplementación, particularmente cuando el grano de girasol fue combinado con aceite de pescado (GG-AP) (Figura 3).

El incremento de concentración de 9-cis 11-trans CLA promedió un 144% sobre basal sin diferencias entre GG o AG. El AP incrementó (+37%) el contenido de CLA de

2.86 a 3.92 g/100g AG (Figura 4).

La suplementación de la vaca en pastoreo con AG insaturados produjo un cambio importante en el perfil de AG de la leche incrementando su valor funcional.

## VI) Estudios de transferencia a producto.

### a) Leche pasteurizada.

Los resultados presentados confirman que es posible manipular la composición en AG de los lácteos a través de la alimentación de la vaca a fin de enriquecer naturalmente en CLA a la leche cruda. Resulta necesario conocer si el proceso de pasteurización puede afectar negativamente la concentración de los AG benéficos en el producto final que llega al consumidor. Se obtuvo leche alto CLA ( $2,93 \pm 1,71$  g/100 g AG, 9c, 11t C18:2) utilizando 6 vacas Holando Argentino en pastoreo de avena suplementadas con grano de maíz (1,3 kg MS/vaca/día), silaje de maíz (5.6 kg DM/cow/d), expeller de girasol (0,89 kg MS/vaca/d), aceite de girasol (0,8 kg/vaca/d) y aceite de pescado (0,24 kg/vaca/d). Las muestras de leche fueron sometidas a dos condiciones de pasteurización : 72 °C du-

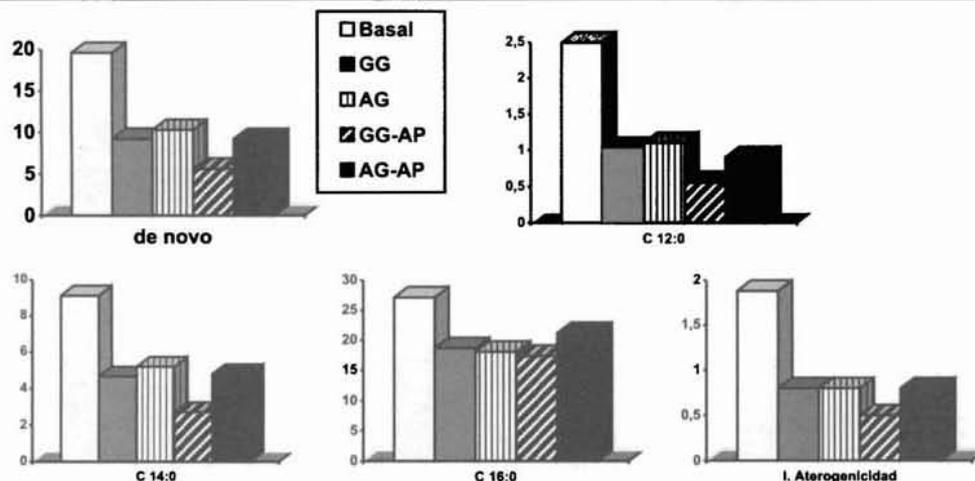


Figura 3. Efecto de la suplementación con grano de girasol (GG), aceite de girasol (AG) y la combinación con aceite de pescado (AP) sobre la concentración de ácidos grasos (g/100g AG) en leche de vacas en pastoreo.

Índice de aterogenicidad:  $[(C12 + 4C14 + C16)/\text{insaturados}]$  (Ulbricht y Southgate, 1991)

Fuente : Gagliostro y otros, 2006.

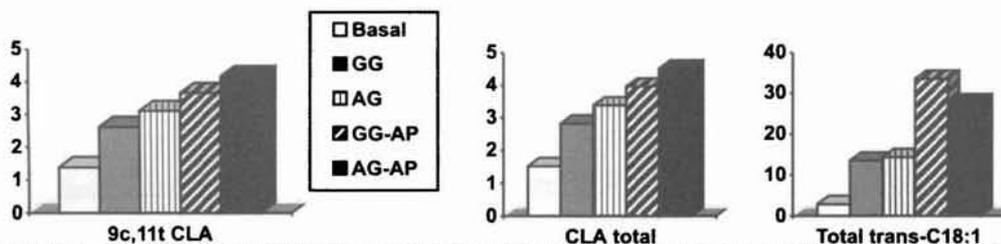


Figura 4. Efecto de la suplementación con grano de girasol (GG), aceite de girasol (AG) y la combinación con aceite de pescado (AP) sobre la concentración (g/100g AG) de 9-cis 11-trans CLA, CLA total y trans-C18:1 total en leche de vacas en pastoreo.



**Cuadro 9.** Composición en ácidos grasos en leche cruda (LC) alto CLA y su persistencia en leche pasteurizada HTST y UHT.

Acido graso (g/100 g de AG totales)	LC	HTST	P< <sup>(1)</sup>	UHT	P< <sup>(2)</sup>
C4:0	1,48	1,49	0,53	1,39	0,52
C6:0	0,91	0,92	0,13	0,89	0,86
C8:0	0,54	0,55	0,42	0,53	0,86
C10:0	1,24	1,23	0,67	1,22	0,92
C12:0	1,57	1,58	0,52	1,57	0,97
C14:0	6,52	6,53	0,69	6,50	0,97
C16:0	29,10	28,95	0,63	28,54	0,94
C18:0	5,52	5,61	0,05	5,51	0,99
C18:1t10	8,78	8,29	0,45	9,04	0,88
C18:1t11	6,95	7,44	0,001	7,22	0,92
C18:1c9	16,72	16,46	0,66	17,04	0,92
C18:2n6	1,78	1,81	0,40	1,80	0,96
C18:3n3	0,32	0,34	0,06	0,33	0,58
CLAc9t11	2,93	3,01	0,11	3,01	0,94
C <sub>20:5 n3</sub> (EPA)	0,05	0,05	0,42	0,04	0,02
C <sub>22:6 n3</sub> (DHA)	0,05	0,06	0,18	0,06	0,08
IA <sup>(2)</sup>	1,45	1,45	1,40		

<sup>(1)</sup> LC - HTST. <sup>(2)</sup> LC - UHT <sup>(3)</sup> IA : Índice de aterogenicidad [(C12 + 4C14 + C16)/á insaturados]].

**Fuente :** Gagliostro y otros, 2007 (no publicado).

**Cuadro 10.** Composición en ácidos grasos en leche comercial estándar (LCE) (1) y su persistencia en yogurt estándar (YE).

Acido graso (g/100 g de AG totales)	LCE	YE	YE/LCE x 100
C4:0	1,95	1,94	99,5
C6:0	1,54	1,53	99,3
C8:0	1,01	1,02	101
C10:0	2,32	2,37	102
C12:0	2,76	2,82	102
C14:0	10,09	10,13	100
C16:0	27,43	27,20	99,2
C18:0	11,96	11,83	98,9
C18:1t10	0,36	0,35	97,2
C18:1t11 (AV)	2,29	2,46	107
C18:1c9	21,74	21,30	98
C18:2n6	2,14	2,18	102
C18:3n3	0,73	0,76	104
CLAc9t11	1,04	1,09	105
C <sub>20:5 n3</sub> (EPA)	0,07	0,07	100
C <sub>22:6 n3</sub> (DHA)	0,01	0,01	100
IA <sup>(2)</sup>	2,32	2,32	

<sup>(1)</sup> Leche entera ("La Serenísima").

<sup>(2)</sup> IA : Índice de aterogenicidad [(C12 + 4C14 + C16)/á insaturados]].

**Fuente :** Gagliostro y otros (no publicado)

rante 15 segundos (HTST) y 140 °C durante 5 seconds (UHT). La diferencia de concentración entre leche cruda (LC) y leche pasteurizada para cada AG fue analizada mediante el test t de Student para diferencias apareadas. Los resultados se presentan en el Cuadro 9.

La tecnología UHT no modificó la composición en AG de la leche. Las concentraciones de C18:0 (inerte en salud humana) y de C18:3n3 (protector) fueron ligeramente aumentadas (+1,6% y + 6,2%) en la leche HTST. La concentración del trans11-C18:1 precursor del CLA para síntesis endógena en el ser humano, resultó incrementada (+7%) por el proceso HTST. La concentración del c9, 11t CLA no varió. La calidad funcional de la leche pasteurizada permaneció intacta reflejando la composición en AG de la leche cruda.

#### b) Yogurt.

El protocolo de alimentación para la obtención de leche alto CLA fue similar al descrito para leche pasteurizada. Se obtuvieron muestras individuales de leche alto CLA las que fueron transformadas en yogurt reproduciendo condiciones industriales de elaboración. Se utilizó una leche comercial entera ("La Serenísima") para conocer los valores estándar de concentración de AG en leche y yogurt (Cuadro 10). La diferencia de concentración entre la leche y el yogurt para cada AG fue analizada mediante el test t de Student para diferencias apareadas. Los resultados se presentan en los Cuadros 10 y 11.

Respecto a la leche y al yogurt de referencia (Cuadro 10) la alimentación implementada disminuyó drásticamente la concentración (g/100g AG) de C12 (-1,14), C14 (-5,35) y C16 (-7,64) considerados como aterogénicos cuando son consumidos en exceso. Tanto en leche como en yogurt el IA fue reducido de 2,32 (Cuadro 10) a 0,77 (Cuadro 11). Las concentraciones en leche y yogurt de trans11-C18:1 (precursor del CLA) (+14,27 g/100 g) y del c9t11-CLA (+2,97 g/100g AG, +279%) resultaron fuertemente incrementadas. La concentración de EPA y DHA aumentaron en 0,16 y en 0,35 g/100g AG respectivamente. En comparación a la leche comercial (Cuadro 10) el perfil de AG fue favorablemente modificado por la alimentación practicada. Utilizando la leche alto CLA (Cuadro 11) la elaboración de yogurt no modificó las concentraciones de los AG en el producto. La recuperación osciló entre el 95 y el 111%. Se concluye que la calidad nutricional del yogurt permaneció intacta estando fuertemente condicionada por la composición en AG de la leche de origen. Esta última resultó altamente dependiente de la alimentación de la vaca.

#### c) Queso blanco untable.

El objetivo fue conocer si la transformación de leche alto CLA en queso blanco untable induce modificaciones importantes en la concentración de AG de interés nutricional. El protocolo de alimentación de las vacas fue el mismo que para los casos anteriores (a y b). Luego de 10 días de acostumbramiento, se obtuvieron muestras individuales de leche las que fueron transformadas en queso blanco untable reproduciendo condiciones industriales de

**Cuadro 11.** Composición en ácidos grasos en leche alto CLA (LCLA) y su persistencia en yogurt (YCLA).

Acidos grasos (g/100 g de AG totales)	LCLA	YCLA	P<	YCLA/LCLA x 100
C4:0	1,13	1,16	0,66	103
C6:0	0,78	0,83	0,19	106
C8:0	0,55	0,59	0,39	107
C10:0	1,33	1,43	0,54	107
C12:0	1,58	1,71	0,58	108
C14:0	4,52	5,00	0,35	111
C16:0	19,29	20,06	0,59	104
C18:0	5,74	6,20	0,81	108
C18:1t10	6,48	5,62	0,59	87
C18:1t11 (AV)	17,05	16,24	0,88	95
C18:1c9	19,99	20,18	0,96	101
C18:2n6	3,33	3,24	0,77	97
C18:3n3	0,30	0,33	0,30	110
CLAc9t11	4,14	3,95	0,88	95
C <sub>20:5 n3</sub> (EPA)	0,23	0,22	0,87	96
C <sub>22:6 n3</sub> (DHA)	0,36	0,36	0,99	100
IA <sup>(1)</sup>	0,74	0,80		

(1) IA : Índice de aterogenicidad [(C12 + 4C14 + C16)/á insaturados)].



elaboración. Se analizó además una leche comercial entera ("La Serenísima") para conocer los valores estándar de concentración de AG por cromatografía gas-líquido en todos los productos. La diferencia de concentración entre la leche y el queso alto CLA fue analizada mediante el test t de Student para diferencias apareadas. La concentración (g/100g de AG) de los AG potencialmente aterogénicos en la leche comercial estándar fue de 2,76 para C12:0, 10,09 para C14:0 y 27,43 para C16:0. Las concentraciones de C12:0 (-1,19) y de C14:0 (-3,57) disminuyeron drásticamente en la leche alto CLA pero no así la de C16:0. El IA disminuyó de 2,32 en la leche comercial a 1,45 en la leche alto CLA. Las concentraciones en leche estándar de trans11-C18:1 y del c9t11-CLA fueron de 2,29 y de 1,04 g/100 g AG respectivamente. La alimentación implementada aumentó dichas concentraciones en +4,66 g/100 g para el ácido trans vaccénico y en +1,89 g/100g AG para el c9t11-CLA. La concentración de C20:5 n3 (EPA) y de C22:6 n3 (DHA) no variaron. La transformación de leche alto CLA en queso blanco untable no modificó significativamente las concentraciones de los diferentes AG en el producto (Cuadro 12).

Sólo se detectó una disminución significativa del C4:0 del orden del 25,67 %. Para el queso blanco untable la recuperación de los diferentes AG fue alta y la del CLA alcanzó un promedio de 101% reflejando la concentración de la leche de origen. Resulta necesario expandir esta información hacia otras técnicas de elaboración integrando eventuales efectos de diversos procesos y bacterias ini-

ciadoras involucradas en cada variedad de queso.

## VII) Conclusiones.

Los productos lácteos pueden vehiculizar entre un 25-60% de las grasas saturadas que consume el ser humano y por lo tanto han sido objeto de críticas de parte de los especialistas en nutrición humana. Esta mala imagen de la GB debe ser reconsiderada en función al conocimiento del balance entre los efectos positivos y negativos sobre la salud de los diferentes AG que ella contiene. El consumo de AG saturados de cadena corta a media (C4:0 a C10:0) no conduce a elevaciones en el colesterol circulante ni estaría asociado a riesgos de muerte por afecciones coronarias. Los AG saturados como el C12:0, C14:0 y C16:0 son aterogénicos sólo cuando son consumidos en exceso y su presencia en los lácteos puede ser significativamente reducida a través de la suplementación de la vaca. El ácido esteárico (C18:0, 10% del total de AG en la leche) es considerado como neutro o aún con efecto positivo sobre la salud humana. El ácido oleico (C18:1 cis 9, 28-30% del total de AG en los lácteos) es un protector contra la aterogénesis debido a sus propiedades benéficas sobre la composición de los lípidos plasmáticos. Respecto a las denominadas grasas trans sus efectos metabólicos difieren entre los aceites vegetales parcialmente hidrogenados (margarinas) y los lácteos. En las margarinas la concentración total de trans-C18:1 alcanza valores cercanos al 60% del total de AG mientras que en

**Cuadro 12.** Composición en ácidos grasos en leche alto CLA (LCLA) y su persistencia en queso blanco untable (QCLA).

Acidos grasos (g/100 g de AG totales)	LCLA	QCLA	P<	QCLA/LCLA x 100
C4:0	1,48	1,10	0,04	74,3
C6:0	0,91	0,79	0,32	86,8
C8:0	0,54	0,50	0,60	92,6
C10:0	1,24	1,21	0,87	97,6
C12:0	1,57	1,59	0,92	101,3
C14:0	6,52	6,69	0,83	102,6
C16:0	29,10	29,51	0,95	101,4
C18:0	5,52	5,77	0,84	104,5
C18:1t10	8,78	7,93	0,57	90,3
C18:1t11 (AV)	6,95	7,91	0,65	113,8
C18:1c9	16,72	16,65	0,98	99,6
C18:2n6	1,78	1,78	0,99	100
C18:3n3	0,32	0,33	0,52	103,1
CLAc9t11	2,93	2,97	0,97	101,4
C <sub>20:5</sub> n <sub>3</sub> (EPA)	0,05	0,05	0,58	100
C <sub>22:6</sub> n <sub>3</sub> (DHA)	0,05	0,06	0,89	120
IA <sup>(1)</sup>	1,45	1,47		

<sup>(1)</sup>IA : Índice de aterogenicidad [(C12 + 4C14 + C16)/á insaturados)].

Fuente : Gagliostro y otros (no publicado).

la manteca dicho valor promedio es del 5%. La hidrogenación parcial de aceites conduce a la formación de ácido eláidico (9trans-C18:1) como principal monoinsaturado trans cuyos efectos hipercolesterolémicos y la incidencia de enfermedades cardiovasculares en el ser humano es un hecho aceptado. La grasa trans de los lácteos está representada por el 11trans-C18:1 y los CLA que parecen no ejercer efectos negativos e inclusive positivos sobre la salud humana. Los efectos desfavorables de los AG trans presentes en los aceites parcialmente hidrogenados sobre los parámetros aterogénicos en el ser humano es sólida pero tales evidencias no son extrapolables al trans-11-C18:1 presente en los lácteos. Los CLA se destacan como agentes anticancerígenos y antiaterogénicos.

El consumo de lácteos funcionales enriquecidos naturalmente en CLA representa el mayor aporte a fines de alcanzar las dosis terapéuticas de CLA sobre enfermedades degenerativas como el cáncer y la aterosclerosis. Las dosis preventivas a ingerir diariamente de estos alimentos resultarían desde luego mucho más bajas (al menos unas 10 veces menos) y por lo tanto más fáciles de obtener. La recuperación de los CLA (y de su isómero precursor, el trans-11 C18:1) desde leche cruda a lácteos transformados (leche pasteurizada, mantecas, quesos, yogures, leche en polvo) estaría garantizada partiendo de una leche natural alto CLA. Se destaca la importancia para la cadena leche de trabajar en la obtención de productos naturales alto CLA a fin de optimizar la acumulación de CLA en los tejidos humanos y con ello su efecto protector. Si bien la información acumulada sobre el efecto anticancerígeno de los CLA en el ser humano puede calificarse aún como insuficiente los resultados obtenidos son muy promisorios. Las propiedades antiaterogénicas de los CLA podrían ser alcanzadas a través del consumo de alimentos naturales alto CLA.

El aporte de aceite libre de oleaginosas ricas en C18:2 es la vía más efectiva para incrementar los valores de CLA en leche. Resulta importante obtener un rápido y eficaz contacto del aceite con las bacterias ruminales a fin de favorecer la acumulación ruminal del ácido trans-11 C18:1 precursor de los CLA. Inhibidores naturales de la biohidrogenación total del trans-11-C18:1 a nivel de rumen como los ácidos  $\nu$ -3-EPA y sobre todo  $\nu$ -3-DHA presentes en el aceite de pescado o suplementos de origen marino pueden potenciar el efecto citado. El aceite puede ser vehiculizado a través del aporte de granos oleaginosos (soja, colza, girasol). Los granos oleaginosos deberán ser molidos y mezclados con los otros componentes del concentrado a fines de facilitar un contacto rápido y eficaz entre el aceite y las bacterias ruminales. La suplementación con grasas de origen animal no resultará efectiva para incrementar los niveles de CLA en leche debido a su pobreza en AG poliinsaturados. Por otra parte, la utilización de suplementos de origen animal está prohibido debido al peligro de transmisión de encefalopatía esponjiforme bovi-

na (vaca loca).

La alimentación pastoril resulta predisponente a obtener leches enriquecidas en dienos conjugados (CLA) los que pueden aún ser amplificados mediante una suplementación estratégica de la vaca utilizando alimentos que contengan AG insaturados. El suministro de dichos AG insaturados bajo la forma de sales cálcicas inertes en rumen ha dado excelentes resultados en ensayos de alimentación pastoril llevados a cabo en la EEA Balcarce del INTA. La combinación de granos oleaginosos (girasol) con inhibidores de biohidrogenación ruminal (aceite de pescado) permitió obtener las más altas concentraciones de CLA en la leche.

La importante variabilidad detectada entre las vacas resalta también la importancia de avanzar en la obtención de marcadores moleculares indicativos de una alta capacidad de generación de CLA. Este procedimiento sumado a manipulaciones precisas en la nutrición de las vacas más aptas del rodeo permitirán ser más eficientes a la hora de generar productos lácteos diferenciados por sus propiedades benéficas sobre la salud de los consumidores.

---

## Referencias.

---

- Agenäs, S., Holtenius, K., Griinari, M., Burstedt, E. 2002. Effects of turnout to pasture and dietary fat supplementation on milk fat composition and conjugated linoleic acid in dairy cows. *Acta Agric. Scand. , Sect. A, Animal Sci.* 52 :25-33.
- Aro, A, Salminen, I. 1998. Difference between animal and vegetable trans fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.* 68: 918-919.
- Aro, A., Mannisto, S., Salminen, I. Ovaskainen, M.J., Kataja, V., Uusitupa, M. 2000. Inverse association between dietary and serum conjugated linoleic acid and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Nutr. Cancer* 38, 151-157.
- Ascherio, A., Katan, M.B., Zock, P.L., Stampfer, M.J., Willet, W.C. 1999. Trans fatty acids and coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.* 340, 1994-1998.
- Banni, S., Murru, E., Angioni, E., Carta, G., Melis, M.P. 2002. Conjugated linoleic acid isomers (CLA): good for everything?. *Sciences des aliments.*, 22, 371-380.
- Banni, S. Heys, S.D., Wahle, K.W.J. 2003. Conjugated linoleic acids as anticancer nutrients: Studies in vivo and cellular mechanisms. In : *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food. Volume 2.* J.L Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. pp 267-282.
- Bauchart, D., Verité, R., Rémond, 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 D.E., Barbano, D.M., Dwyer, D.A. and Griinari, J.M. 2000. Technical Note: Production of butter



with enhanced conjugated linoleic acid for use in biomedical studies with animal models. *J. Dairy Sci.*, 83:2422-2425.

Bauman, D.E., Cori, B.A., Baumgard, L.H., Griinari, J.M. 2001. Conjugated linoleic acid (CLA) and the dairy cow. In: P.C. Garnsworthy and J. Wiseman (eds.) Recent advances in Animal Nutrition. Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp 221-250.

Chilliard Y., Ferlay A., Mansbridge R.M., Doreau M. 2000. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.* 49, 181-205.

Chilliard, Y., Ferlay, A., Doreau, M. 2001. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Liv. Prod. Sci.*, 70,31-48.

Chilliard, Y., Ferlay, A., Loor, J., Rouel, J., Martin, B. 2002. Trans and conjugated fatty acids in milk from cows and goats consuming pasture or receiving vegetable oils or seeds. *Ital. J. Anim. Sci.* (1), 243-254.

Chilliard, Y., Sauvant, D., Morhand-Fehr, P. 1981. Synthèse des matières grasses du lait chez les ruminants. Incidence de la conduite alimentaire et de l'utilisation des réserves corporelles. En : *Physiologie de la sécrétion et de l'éjection du lait*. ENSA de Rennes, 45 pag.

Gagliostro 2001. Los Nutrientes Bypass en la Alimentación de la Vaca Lechera. Publicaciones INTA EEA Balcarce. 200 páginas.

Gagliostro, G.A. 2004a. Control nutricional del contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche y su presencia en alimentos naturales funcionales. 1. Efectos sobre la salud humana. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 24, 113-136

Gagliostro, G.A. 2004b. Control nutricional del contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche y su presencia en alimentos naturales funcionales. 2. Producción de leche alto CLA a través de la suplementación estratégica de la vaca lechera. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 24, 137-163.

Gagliostro, G.A. 2004c. Control nutricional del contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche y su presencia en alimentos naturales funcionales. 3. Producción de leche alto CLA a través de la suplementación estratégica de cabra. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 24, 165-185.

Gagliostro, G.A., Páez, R., Schang, M.E., Garcarena, D., Fernández, H.H. y Guaita, M.S. 2004. Reemplazo de grano de maíz por semilla de girasol en vacas lecheras en pastoreo : 2. Metabolitos plasmáticos y composición en ácidos grasos de la leche. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 24 (Suplem. 1).

Gagliostro, G.A., Rodríguez, A., Pellegrini, P., Musset, G., Gatti, P., Castañeda, R., Garcarena, D.A., Oporto, M., Fernández, H.H., Ferlay, A. and Chilliard, Y. Effects of sunflower oil or seeds combined or not with fish oil on conjugated linoleic acid in milk fat from grazing dairy cows. *RAPA 26 (Suplem I)*, 99-100.

Geay, Y., Bauchart, D., Hocquette, J.F., Culioli, J. 2002. Valeur diététique et qualités sensorielles des viandes de ruminants. Incidence de l'alimentation des animaux.

*INRA Prod. Anim.*, 15(1), 37-52

Griinari, J.M., and Bauman, D.E. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. Pages 180-200 en *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. Volume 1. M.P. Yurawecz, M.M. Mossoba, J.K.G. Framer, M.W. Pariza and G.J. Nelson, eds. AOCS Press, Champaign, IL.

Grumer, R. R., 1991. Effect of feed on the composition of milk fat. *J Dairy Sci.* 74: 3244-3257.

Hu, F.B, Stampfer, M.J. Manson, J.E., Aschreio, A., Colditz, G.A., Speizer, F.E. 1999. Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *J. Clin. Nutr.*, 70:1001-1008.

Institute of Medicine 2002. Letter Report on Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. On the World Wide Web at [http://www.iom.edu/iom\\_iomhome.nsf/Wfiles/TransFattyAcids/\\$file/TransFattyAcids.pdf](http://www.iom.edu/iom_iomhome.nsf/Wfiles/TransFattyAcids/$file/TransFattyAcids.pdf)

Ip, C., Scimeca, J.A. Thompson, H. 1995. Effect of timing and duration of dietary conjugated linoleic acid on mammary cancer prevention. *Nutr. Cancer* 24, 241-247.

Ip, C., Banni, S., Angioni, E. Carta, G., McGinley, J., Thompson, H.J., Barbano, D. and Bauman D. 1999. Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.* 129:2135-2142.

Kudzdal-Savoie, S., Kudzdal, W. 1961. Influence de la mise à l'herbe des vaches laitières sur les indices de la matière grasse du beurre et sur les teneurs en différents cides gras polyinsaturés. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Bioph.*, 1, 47-69.

Lawless, F., Stanton, C., L'Escop, P., Devery, R., Dillon, P. y Murphy, J.J. 1999. Influence of breed on bovine milk cis-9, trans-11 Conjugated linoleic acid content. *Livest. Prod. Sci.* 62, 43-49.

Lawless, F., Murphy, J.J., Harrington, D., Devery, R. y Stanton, C. 1998. Elevation of conjugated cis-9, trans-11 octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation. *J. Dairy Sci.* 81: 3259-3267.

Legrand, P. Bourre, J.M., Descomps, B., Durand, G., Renaud, S. 2001. Apports nutritionnels conseillés pour la population française. 3ème édition, Martin, A. Technique et documentation.

Loor, J.J., Herbein, J.H., Polan, C.E. 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.

Mensink, R.P. 2002. Trans fatty acids: state of the art. *Sciences des Aliments*, 22 365-369.

Milner, J.A. 1999. Functional foods and health promotion. *J. Nutr.* 129, 1395S-1397S.

Murphy, J.J., Connolly, J.F., McNeill, G.P. 1995. Effects on cow performance and milk fat composition of feeding full fat soybeans and rapeseeds to dairy cows on pasture. *Livest. Prod. Sci.* 44, 13-25.

O'Callaghan, D., Stanton, S., Rafferty, M., Canton, J. Murphy, D. Connolly, B., Horgan, J. 1996. Are butter and



cheese rich in monounsaturates beneficial in hyperlipidaemic patients? *J. Cardiovasc. Risk* 3,441-445.

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.

Pariza, M.W. 1999. The biological activities of conjugated linoleic acid. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Volume 1 (Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Parizza, M.W. and Nelson, J.B., eds.) pp 12-20, AOCS Press, Champaign, IL.

Parodi, P.W. 1999. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J. Dairy Sci.* 82, 1339-1349.

Parodi, P.W. 2003. Conjugated linoleic acid in food. In : *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food*. Volume 2. J.L Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. pp 101-122.

Parrish, Jr., F.C., Wiegand, B.R., Beitz, D.C., Ahn, D.U., Du, M., Trenkle, A.H. 2003. Use of dietary CLA to improve composition and quality of animal-derived foods. In : *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food*. Volume 2. J.L Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. Pp 189-217.

Poppit, S.D., Keogh, G.F., Mulvey, T.B., McArdle, B.H., MacGibbon, A.K.H., Cooper G.J.S. 2002. Lipid-lowering effects of a modified butter fat: a controlled intervention trial in healthy men. *Europ. J. Clin. Nutr.* 56, 64-71.

Rearte, D.H., Santini, F.J., García, P.T. Maritano, M y Elizalde, J.C. 1989. Efectos de la suplementación de semilla de girasol sobre la producción y composición de la leche. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 9 (Suplem. 1): 6.12

Riel, R.R. 1963. Physico-chemical characteristics of canadian milk fat. Unsaturated fatty acids. *J. Dairy Sci.* 46, 102-106.

Schneider, C.L., Cowles, R.L., Stuefer-Powell, C.L., Carr, T.P. 2000. Dietary stearic acid reduces cholesterol absorption and increases endogenous cholesterol excretion in hamsters fed cereal-based diets. *Am. Soc. for Nutr. Sci.*, 1232-1238.

Schrezenmeir, J. y Jagla, A. 2000. Milk and diabe-

tes. *Journal of the Am. College of Nutrition*, 19 (2), 176s-190S.

Schroeder, G.F., Delahoy, J.E., Vidaurreta, I., Bargo, F. Gagliostro, G.A. and Muller, L.D. 2003. Milk fatty acid composition of dairy cows fed a total mixed ration or grazing pasture and supplemented with concentrates replacing corn grain with fat. *J. Dairy Sci.* 86,3237-3248.

Schroeder, G.F., G.A. Gagliostro, F. Bargo, J.E. Delahoy, and L.D. Muller. 2004. Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. *Livestock Production Science* 86 (1-3),1-18.

Stanton, C., Murphy, J., McGrath, E., Devery, R. 2003. Animal feeding strategies for conjugates linoleic acid enrichment of milk. In : *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food*. Volume 2. J.L Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. Pp 123-145.

Thompson, H. Shu, Z, Banni, S., Darcy, K., Loftus, T., Ip, C. 1997. Morphological and biochemical status of the mammary gland as influenced by conjugated linoleic acid : implication for a reduction in mammary cancer risk. *Cancer Res.* 57, 5067-5072.

Ulbricht, T.L.V, Southgate, D.A.T. 1991. Coronary heart disease : seven dietary factors. *Lancet* 338, 985-992.

Vidaurreta, L.I., Gagliostro, G.A., Schroeder G.F., Eyherabide, G. 2002a. Partial replacement of corn grain by calcium salts of unsaturated fatty acids in grazing dairy cows : 1- Dry matter intake, milk production and composition. (Abstract). *J. Dairy Sci.* 85,311.

Vidaurreta, L.I., Gagliostro, G.A., Schroeder G.F., Rodriguez, A, Gatti, P. 2002b. Partial replacement of corn grain by calcium salts of unsaturated fatty acids in grazing dairy cows : 2- Milk fatty acid composition (Abstract). *J. Dairy Sci.* 85, 311-312.

Watkins, B.A., Li, Y. 2003. CLA in functional food: enrichment of animal products. . In : *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food*. Volume 2. J.L Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. pp 174-188.

Williams, C.M. 2000. Dietary fatty acids and human health. *Ann. Zootech.*, 49, 165-180.