



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**Programa de Posgrados**

**PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN LECHE DE VACAS  
ALIMENTADAS EN BASE A DIETA TOTALMENTE MEZCLADA  
COMBINADAS O NO CON DIFERENTES TIEMPOS DE PASTOREO**

**JOAQUÍN BARCA TARIGO**

**TESIS DE MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN ANIMAL**

**URUGUAY  
2016**





**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**Programa de Posgrados**

**PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN LECHE DE VACAS  
ALIMENTADAS EN BASE A DIETA TOTALMENTE MEZCLADA  
COMBINADAS O NO CON DIFERENTES TIEMPOS DE PASTOREO**

**JOAQUÍN BARCA TARIGO**

---

**Dra. MSc.PhD Ana Meikle  
Directora de Tesis**

---

**Ing. Agr. MSc. PhD  
Pablo CHilibroste  
Co-Director de Tesis**

---

**Ing. Agr. PhD.  
Mariana Carriquiry  
Co-Directora de Tesis**

---

**Q.F. Laura Olazabal  
Co-Directora de Tesis**

**2016**

**INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE  
DEFENSA DE TESIS**

**Laura Astigarraga; Ing. Agr., MSc., PhD.  
Facultad de Agronomía  
Universidad de la República–Uruguay**

**Darío Hirigoyen; DVM, MSc.  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de la República–Uruguay**

**Patricia Lema; Ing. Quím., MSc., PhD.  
Facultad de Ingeniería de Alimentos  
Universidad de la República–Uruguay**

# ACTA DE DEFENSA DE TESIS

# INFORME DEL TRIBUNAL

# AGRADECIMIENTOS

# INDICE

RESUMEN.....	v
SUMMARY.....	vii
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	2
a) Producción de leche en Uruguay.....	2
b) Calidad de la leche.....	3
c) Composición de la leche bovina.....	4
d) Síntesis de la grasa de la leche.....	7
e) Calidad composicional de la grasa láctea: impacto en la salud humana y aptitud tecnológica.....	10
f) Cambios en los perfiles de ácidos grasos debido a la alimentación... 11	
i. Estudios en estabulación con diferentes suplementos.....	12
ii. Animales en pastoreo con suplementación.....	12
iii. Uso de pasturas y Dietas Totalmente mezcladas.....	13
CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA.....	16
HIPÓTESIS.....	18
OBJETIVOS.....	19
a) Objetivo general.....	19
b) Objetivos específicos.....	19
MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
a) Manejo animal y pre parto.....	20
b) Diseño experimental y tratamientos.....	20
c) Pastura.....	20
d) Mediciones experimentales y análisis de muestras.....	22
i. Mediciones en los animales.....	22
ii. Determinación del perfil de ácidos grasos en leche y alimentos.....	22
e) Análisis estadístico.....	23
RESULTADOS.....	24
a) Efecto de la estrategia de alimentación en lactancia temprana sobre el perfil de ácidos grasos a los 45 DPP.....	24
b) Efecto del cambio a 6 horas de pastoreo luego de DTM en el perfil de ácidos grasos a los 65 DPP.....	27
DISCUSIÓN.....	32
a) Efecto de la estrategia de alimentación en lactancia temprana sobre el perfil de ácidos grasos a los 45 DPP.....	32
b) Efecto del cambio a 6 horas de pastoreo luego de DTM en el perfil de ácidos grasos a los 65 DPP.....	34
CONCLUSIONES.....	36
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Perfil de ácidos grasos promedio. Adaptado de Moate et al., 2007.	7
Tabla 2. Composición química y perfil de ácidos grasos de la Dieta Totalmente Mezclada y la pastura .....	21
Tabla 3. Producción y composición de leche de vacas alimentadas con Dieta totalmente mezclada (G0), 50% Dieta Parcialmente Mezclada (DPM) y 6 h de acceso a pastoreo en una sesión (G1), 50% DPM y 9 h de acceso a pastoreo en dos sesiones (G2) a la 7 <sup>a</sup> y 9 <sup>a</sup> Semana.....	24
Tabla 4. Componentes de ácidos grasos de vacas alimentadas con Dieta Totalmente Mezclada (G0), 50% Dieta Parcialmente Mezclada (DPM) y 6 h de acceso a pastoreo en una sesión (G1), 50% DPM y 9 h de acceso a pastoreo en dos sesiones (G2) a los 45 Días Post-Parto .....	25
Tabla 5. Perfil de ácidos grasos de vacas alimentadas con Dieta Totalmente Mezclada (G0), 50% Dieta Parcialmente Mezclada (DPM) y 6 h de acceso a pastoreo en una sesión (G1), 50% DPM y 9 h de acceso a pastoreo en dos sesiones (G2) a los 45 Días Post-Parto.....	25
Tabla 6. Efecto del cambio a 50% Dieta Parcialmente Mezclada (DPM) y 6 h de pastoreo en una sesión (Post-DTM) luego de 100% Dieta Totalmente Mezclada (G0) y 50% DPM y 6 h de pastoreo en una sesión (G1; como control).....	28
Tabla 7. Efecto del cambio a 50% Dieta Parcialmente Mezclada (DPM) y 6 h de pastoreo en una sesión (Post-DTM) luego de 100% Dieta Totalmente Mezclada (G0) y 50% DPM y 6 h de pastoreo en una sesión (G1; como control).....	29

## INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro I. Composición y estructura de la leche. Adaptado de Walstra et al., 2006.....	5
Figura I. Biohidrogenación ruminal. Adaptado de Bauman et al., 2003. ....	9

## RESUMEN

Se investigó el perfil de ácidos grasos (AG) de vacas Holando multíparas (n=27) a los 45 DPP, alimentadas con dietas totalmente mezcladas *ad libitum* (G0) o una dieta mixta compuesta por dieta parcialmente mezclada (DPM; 50% MS ofertada) y pastura con 6 h de acceso al pastoreo en una sesión (G1) o 9 h de acceso al pastoreo en dos sesiones (G2). Los tratamientos G0, G1 y G2 accedieron a la misma oferta de MS diaria difiriendo en la fuente de la dieta (DTM vs DPM + pastura): G1 y G2 accedieron diariamente a un 50% de la materia seca ofrecida en base a pastura y el otro 50% en DPM, difiriendo sólo en el tiempo de acceso al pastoreo (6 vs 9 h por día). La dieta fue formulada con el objetivo de una producción de leche de 40 kg/d y 30 kg de MS/d fueron ofrecidos con la meta de obtener un rechazo del 15%. Semanalmente se asignó una nueva franja de pastoreo con una disponibilidad media de pastura de 15 kg/MS/d/vaca sobre los 4 cm sobre el nivel del piso. Además, se determinó el perfil de AG en leche a los 65 DPP cuando las vacas del tratamiento G0 fueron cambiadas (61 DPP) a la rutina de tratamiento G1 sin período de adaptación, y las vacas del G1 fueron mantenidas como control. El perfil de AG fue determinado usando un cromatógrafo de gases conectado a un espectrómetro de masa. Los datos fueron analizados en un diseño de bloques usando medidas repetidas al azar incluyendo en el modelo el tratamiento, DPP y su interacción. El consumo de pastura obtenido fue de 27.5% y 34.4% de consumo de diario de MS (G1 y G2, respectivamente; Fajardo et al., 2015). No hubo diferencias en producción de grasa ni por los tratamientos ni por los DPP. La fracción de AG preformados fue mayor (+27%) en las vacas del G2 que en G0 (p<0.05), mientras que no se encontraron diferencias entre estos grupos y G1. El contenido de ácido esteárico (C18:0) fue un 30% mayor en G2 que en G0 y G1. La fracción de AG *de novo* en leche fue mayor en G0 y G1 que en G2. EL contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) no fue diferente entre los tratamientos (p < 0.12), mientras que el de ácido vaccénico (C18:1 *trans*) fue el doble para los tratamientos pastoriles que en G0 (p<0.001). La cantidad de ácido linoléico [C18:3(n-3)] fue la mayor en G2 y la menor en G0 (p<0.001). En contraste, la fracción de AG n-6 en leche fue mayor en G0 que en los tratamientos pastoriles, debido principalmente al ácido linoleico [18:2cis(n-6)]. Estos resultados determinaron que la relación n-6/n-3 en leche fuera casi tres veces mayor en G0 que en G1 y G2 (p < 0.001). Cuando las vacas del grupo G0 fueron movidas al pastoreo (Post-DTM), el contenido de AG preformados aumentó (P<0.05), mientras que en G1 se mantuvo constante, esto se explica principalmente por los ácido esteárico (C18:0) y vaccenico (C18:1 *trans*). En contraste, la fracción de AG *de novo* disminuyó en las vacas Post-DTM, mientras no se observaron cambios en las vacas G1. EL contenido de C18:1 *trans* aumentó en las vacas Post-DTM y el de CLA mostró una tendencia a aumentar. De manera similar, la fracción n-3 en Post-DTM aumentó a los 65 DPP, y esto fue principalmente por el ácido linoleico [C18:3(n-3)]. Por otro lado, la fracción n-6 disminuyó cuando las vacas G0 fueron movidas al pastoreo, explicado principalmente por el contenido de ácido linoleico [C18:2cis (n-6)] y araquidónico [C20:4(n-6)]. En este trabajo, incluyendo un 30% de pastura en la dieta, fue posible modificar

el perfil de AG en leche beneficiosamente para la salud humana sin detrimentos en productividad. Además, el perfil de AG en leche reflejó el cambio de una DTM al pastoreo sin necesidad de un período de adaptación.

## SUMMARY

Milk fatty acid (FA) profile at 45 DIM in Holstein multiparous cows (n=27) fed either total mixed rations *ad libitum* (G0) or a diet composed by TMR (50% DM offered) and pasture grazing with either 6 h of access time to pasture in one grazing session (G1) or 9 h of access time to pasture in two sessions (G2) was investigated. Treatments G0, G1 and G2 accessed daily the same offer of total DM differing on the diet source (TMR vs pasture + TMR): G1 and G2 accessed daily to 50% of the DM offered as pasture and 50% as TMR, differing only on the access time to paddocks (6 vs 9 h per day). The diet was formulated for a milk production target of 40 kg/d and 30 kg DM/d was offered daily with a refusal goal of 15%. A new grazing area was assigned weekly with a mean herbage allowance of 15 kg DM/day/cow over 4 cm above ground level. In addition, milk FA were determined at 65 DIM when G0 cows were shifted (61 DIM) to the G1 treatment routine with no adaptation period, and G1 cows remained as a controls. Fatty acid on 45 and 65 DIM were quantified using a gas chromatograph connected to a mass spectrometer. Data was analyzed in a block design using random repeated measures including in the model the treatment, days and their interaction. Pasture intake resulted in 27.5% and 34.4% of total DMI (Fajardo et al. 2015). Fat production did not differ among treatments or DIM. Preformed FAs in milk fat at 45 DIM were greater (+27%) for G2 than G0 cows ( $p < 0.05$ ), while no differences between these groups and G1 were found. Stearic acid (C18:0) was 30% greater for G2 than both, G0 and G1 cows. *De novo* FA in milk fat were greater for G0 and G1 than G2 cows. Conjugated linoleic acid (CLA) contents in milk did not differ ( $p < 0.12$ ), while vaccenic acid was 2-fold greater for grazing treatments than G0 cows ( $p < 0.001$ ). Linolenic acid [C18:3(n-3)] was greatest for G2 cows and lowest for G0 cows ( $p < 0.001$ ). In contrast, n-6 FA were greater for G0 than grazing cows, mainly due to linoleic acid [18:2cis(n-6)]. These results determined that n-6/n-3 FA ratio in milk was almost three times greater for G0 than G1 and G2 cows ( $p < 0.001$ ). When TMR cows were moved to pasture (Post-TMR), preformed FA were increased in ( $P < 0.05$ ), while remained constant in G1 cows, and this was explained mainly by stearic (C18:0) and vaccenic (C18:1*trans*) acids. In contrast, *de novo* FA fraction was decreased in Post-TMR cows, but no changes were observed in G1 cows. Vaccenic acid (C18:1*trans*) increased in Post-TMR cows and CLA content tended to increase. Similarly, omega 3 fraction in Post TMR cows was increased at 65 DIM, and this was mainly due to the increase in linoleic acid [C18:3(n-3)]. On the other hand, omega 6 fraction decreased when TMR cows were moved to pasture, explained mainly by linoleic [C18:2cis (n-6)] and arachidonic [C20:4(n-6)] acids. In this study it was possible to modify milk fatty acid profile beneficially for human health with no detriments in productivity including 30% of pasture in the diet. Besides, milk FA profile reflected the changes from a TMR to the grazing diet without the need of an adaptation period.

## INTRODUCCIÓN

La grasa láctea es una de las principales fuentes de ácidos grasos (AG) para el consumo humano. Existe una tendencia a la selección de alimentos con elevados contenidos de ácidos grasos polinsaturados (PUFA) por parte del consumidor, particularmente omega 3 y ácidos linoleico conjugados (CLA), debido a las propiedades benéficas para la salud humana (antioxidantes, inhibición de la carcinogénesis o aterogénesis, efectos anti diabéticos, etc; Bauman et al., 2001; Pariza et al., 2001). Además, el perfil de AG tiene un gran impacto en las características sensoriales y la aptitud tecnológica de la leche y sus derivados (Palmquist et al., 1993; Croissant et al., 2007).

Se ha reportado que la alimentación es el factor de mayor influencia en la composición de la grasa láctea (Dewhurst et al., 2006). Numerosos estudios en condiciones de estabulación han evaluado el efecto de diferentes suplementos (esencialmente aceites de diferentes orígenes) sobre la producción de leche y el perfil de AG (AbuGhazale et al., 2003; Looor et al. 2005; Gao et al., 2009). En sistemas pastoriles, la investigación también se ha concentrado en el uso de suplementos con aceites marinos o vegetales (Flowers et al., 2008; Zunong et al., 2009) y escasa atención se le ha dado a los cambios en AG debido a la ingesta de pastura (Dewhurst et al., 2006). La inclusión de pasturas en la dieta aumenta el contenido de AG monoinsaturados y polinsaturados en la leche (Dewhurst et al., 2006). Está aceptado que las vacas que pastorean presentan cantidades aumentadas de omega 3 y CLA cuando son comparadas con vacas alimentadas con raciones totalmente mezcladas (Schroeder et al., 2003). Los sistemas de pastoreo tienen la ventaja adicional de posicionarse a nivel mundial por los costos de producción de leche (Chilibroste, 2011) y por una mejor imagen comparados con los de estabulación frente al consumidor (Croissant et al., 2007). En esta tesis se aborda el estudio de la calidad de la leche – en términos de perfil de AG – con diferentes estrategias de alimentación que incluyen las pasturas durante el posparto temprano.

## ANTECEDENTES

### a) Producción de leche en Uruguay

La lechería uruguaya ante cambios en las condiciones de competencia con otras actividades agrícolas y en el aumento del precio de la tierra (DIEA, 2011) ha incrementado sostenidamente la productividad. En las últimas décadas, el sector lechero uruguayo ha crecido a tasas del orden del 5 % anual (DIEA, 2015). Este ritmo sostenido de crecimiento se ha acelerado en los últimos años con tasas de crecimiento del orden del 7 % anual (INALE, 2013). Este proceso de crecimiento se ha sustentado fundamentalmente en aumentos de productividad (litros por hectárea) dado que la superficie lechera se ha reducido un 10 % durante el período (DIEA, 2015). La productividad por vaca es el factor que en forma individual explica una mayor proporción del crecimiento (> 60 %), mientras que el aumento de carga explica un 25-30 % del incremento en productividad del sector (Chilibroste et al., 2012a). Desde el 2003 al 2014 el número de productores remitentes ha disminuido cerca de un 10 % mientras que el volumen medio (litros/día) por remitente ha aumentado alrededor de un 45 % (DIEA, 2015), lo que refleja un gran aumento en la productividad, donde los productores más ineficientes tienden a desaparecer y los predios a ser cada vez mayores en su escala. Esta estrategia de intensificación de la producción de leche en Uruguay se ha basado en un incremento significativo en el uso de concentrados y reservas de forraje (DIEA, 2009) mientras que la cosecha directa de forraje por parte de los animales ha disminuido (Chilibroste et al., 2011). Este modelo de intensificación de la lechería uruguaya ha sido exigente en niveles de inversión vinculadas fundamentalmente al procesos de alimentación (Mixer, playas de alimentación), capacidad de ordeño, caminería y manejo animal.

Uruguay es un país netamente exportador (más del 60 % de la leche producida), el monto en dólares americanos de este rubro, en 10 años ha crecido un 515 % (OPYPA, 2012). A su vez, la leche en polvo y los quesos (43 % y 33 % del total en U\$S respectivamente) son los principales productos exportados (DIEA, 2012) por lo que los aspectos relacionados a cantidad y tipo de sólidos son centrales en la competitividad de los sistemas de producción y del sector en su conjunto. Uruguay, donde conviven sistemas productivos contrastantes presenta uno de los costos de producción de leche más bajos a nivel internacional (Chilibroste, 2011), aún los sistemas nacionales más intensivos siguen siendo competitivos a nivel mundial. El bajo costo de producción de los sistemas uruguayos se explica porque la participación del forraje (cosecha directa más reservas) en la dieta de los animales sigue manteniendo un nivel relativamente alto (Chilibroste, 2011).

Por otro lado, el consumo de materia seca (MS) en sistemas pastoriles es usualmente más bajo que en sistemas de confinamiento y podría ser insuficiente para sostener la alta producción de leche que podría lograrse con el potencial genético (Kolver y Muller, 1998; Chilibroste et al., 2012a). El consumo de pasturas en vacas lecheras no se limita a las características

fisiológicas del animal, sino que está fuertemente influido por las características de la pastura y del manejo del pastoreo (Chilibroste et al., 2007; Wales et al., 2013). Chilibroste et al. (2007) y Kristensen et al. (2007) han reportado que vacas en la mitad de lactancia aumentan el tiempo total de pastoreo en respuesta a un aumento en el tiempo de acceso al mismo.

En nuestro país, se ha sugerido que los animales no logran expresar su potencial productivo, seguramente en respuesta al desacople entre requerimientos-oferta de nutrientes y ambiente productivo (Chilibroste et al., 2002; Naya et al., 2002; Chilibroste et al., 2011). Las curvas de lactancia resultan de la interacción entre efectos ambientales y la base forrajera de los tambos e involucran períodos de sub-nutrición del rodeo. Esto a su vez provoca que la mayor parte del año las plantas lácteas trabajen por debajo de su capacidad máxima de procesamiento y se vean desbordadas en los picos de producción. Como forma de intervenir sobre este problema en los últimos años se ha evaluado el uso estratégico de Dietas Totalmente Mezcladas (DTM) en lactancia temprana (Acosta et al., 2010; Cajarville et al., 2012; Chilibroste et al., 2011; Fajardo et al., 2012; Meikle et al., 2012). Bargo et al. (2002) reportan mayores producciones de vacas en DTM, intermedias para Dietas Parcialmente Mezcladas (DPM) y menores para pastoreo con concentrados por 21 semanas, disminuyendo estas diferencias a medida que avanza la lactancia entre los tratamientos DTM y mixtos.

Esto destaca la importancia de investigar la eficiencia de los sistemas de alimentación mixtos con el pastoreo como alternativa a los sistemas totalmente estabulados. A nivel nacional se han evaluado DTM combinadas con diferentes estrategias de pastoreo suplementadas con DPM en lactancias tempranas, encontrándose mejores resultados con DTM respecto a los sistemas mixtos con diferencias desde 5% hasta un 24% en producción de leche (Acosta et al., 2010; Meikle et al., 2012; Fajardo et al., 2012). Los trabajos son concluyentes respecto al impacto de la inclusión de DTM sobre la producción de leche, grasa, proteína, variaciones de peso vivo (PV) y condición corporal (CC) al inicio de la lactancia, pero son prácticamente inexistentes los estudios realizados en Uruguay que evalúen variables más específicas indicadoras de la calidad de la leche. Recientemente, un experimento innovador de alcance internacional realizado en nuestro país (Mendoza et al., 2016), demostró que leche proveniente de vacas alimentadas con DPM y pasto cortado fresco ofrecido a animales en encierro, presentó un perfil de AG más benéfico para el consumo humano (ver más adelante) que vacas sin acceso a pasto cortado.

## **b) Calidad de la leche**

La leche es un alimento de consumo masivo y la industria láctea internacional se ha focalizado en la valorización e innovación de productos por las propiedades de algunos componentes lácteos en la promoción de aspectos saludables y terapéuticos de la leche (Bauman et al., 2006). La investigación nacional respecto a calidad de leche en Uruguay se ha limitado a los términos porcentuales de los grandes componentes de la leche (proteína y grasa), y no a la maximización de estos componentes nutracéuticos de forma natural, es decir, hoy, el agregado de alguno de

estos elementos es netamente a nivel industrial. Cabe destacar que aquellas estrategias donde se usa el agregado de alguna sustancia, van en contra de la imagen de “Uruguay Natural” (decreto N° 328029), lo cual creemos que es de gran importancia para un país netamente exportador. Además existe una tendencia muy marcada al aumento en la demanda de alimentos orgánicos a nivel mundial. En Estados Unidos este mercado ha mostrado un crecimiento anual de un 15 a un 21% desde 1997 al 2007 (Croissant et al., 2007). Generar información respecto de cómo se afecta la calidad de leche es de gran interés tanto para la salud de los consumidores así como para el posicionamiento de Uruguay como país exportador de lácteos frente a un mercado internacional competitivo y fluctuante. En este encuadre productivo, es necesario determinar cómo afecta esta tendencia a la intensificación de la lechería nacional a la calidad del producto.

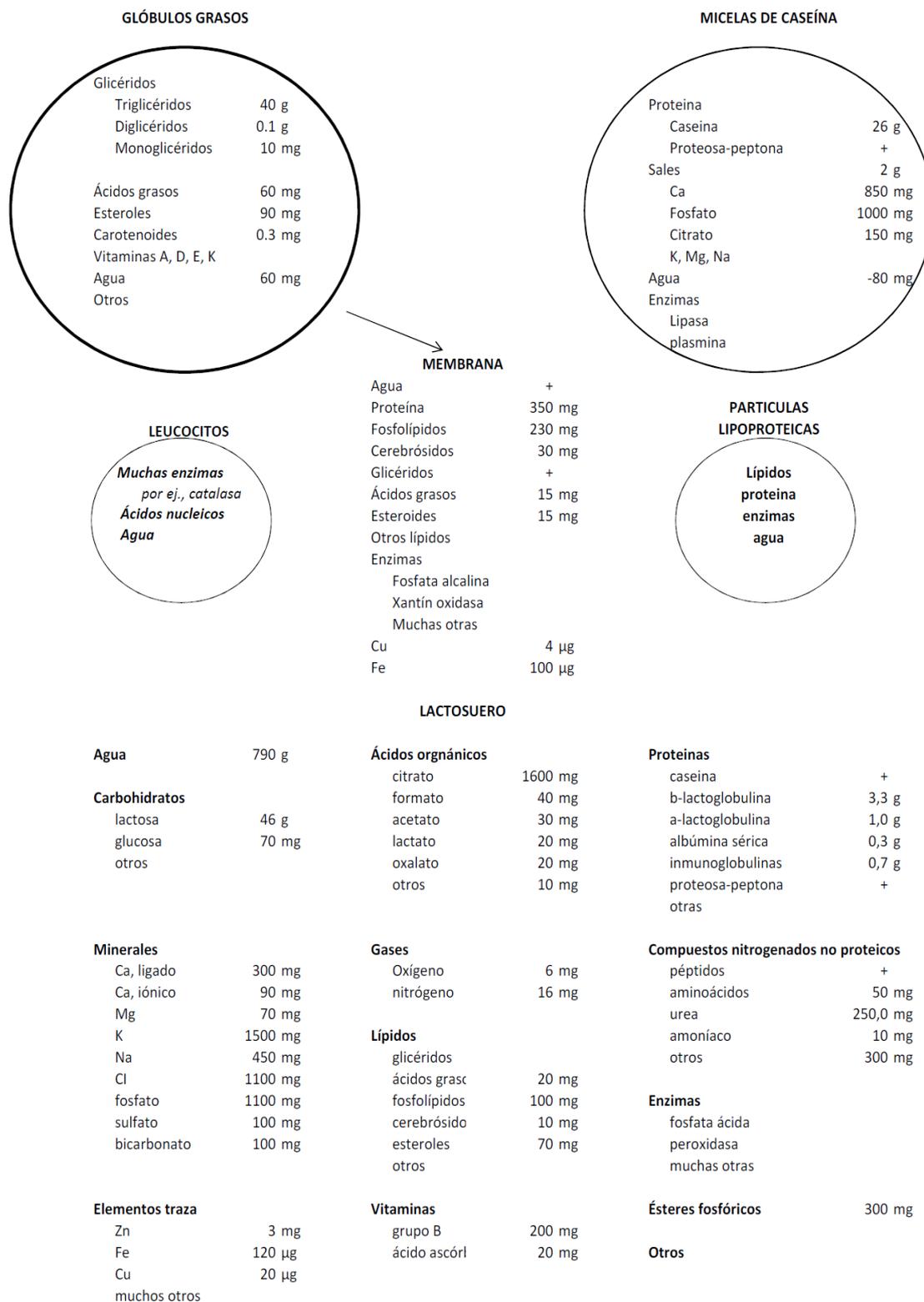
### **c) Composición de la leche bovina**

Se entiende por leche para consumo a “la secreción mamaria normal de animales lecheros obtenida mediante uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción, destinada al consumo en forma de leche líquida o a elaboración ulterior” (Codex alimentarius, 1999). En este sentido y dado que su naturaleza tiene implicancias para una correcta manipulación (ej: muestreo, almacenamiento, conservación, etc.) de la misma, debemos considerar a la secreción láctea como un sistema líquido y homogéneo, complejo y dinámico. Sus componentes, cantidades y forma de presentación se describen a continuación (Cuadro 1).

El agua es el componente que se encuentra en mayor cuantía en la leche, da soporte físico a los demás componentes y define su estado líquido. La misma llega a la secreción láctea desde la circulación sanguínea que irriga la glándula mamaria.

El principal carbohidrato de la leche es la lactosa, disacárido compuesto por glucosa y galactosa es característico de casi todos los mamíferos. Este compuesto es soluble en agua y por lo tanto se encuentra en solución verdadera, es responsable de un 50 % de la presión osmótica e influye sobre otras propiedades coligativas como punto crioscópico y de ebullición, todo esto de gran relevancia, ya que determina en gran medida el volumen de leche producido, la glándula mamaria retiene 900 g de agua cada 50 g de lactosa sintetizada (Jensen, 1995). La síntesis de lactosa es exigente en requerimientos de glucosa, la vaca en lactación dirige el 85% de la glucosa total a la glándula mamaria, siendo su principal destino la generación de lactosa (Xiao y Cant, 2005). Para su síntesis actúa el complejo enzimático Lactosa-sintasa el cual a su vez se compone de 2 fracciones proteicas: Proteína A, galactocyl-transferasa encontrada en varios tejidos entre otros el mamario y Proteína B, alfa-lactoalbúmina, componente que está presente en grandes cantidades en leche (Larson et al., 1965). Además existen cantidades menores de glucosa, galactosa y oligosacáridos así como cantidades muy pequeñas de hexosas monofosfato, hexosaminas y muchos otros mayoritariamente asociados a proteínas y cerebrósidos.

**Cuadro I.** Composición y estructura de la leche. Adaptado de Walstra et al. (2006).



<sup>1</sup> Cantidades medias aproximadas en 1Kg de leche.

Nota: El agua de las micelas de caseína contiene algunas moléculas pequeñas disueltas.

La materia grasa de la leche se dispone como pequeñas gotas de grasa (glóbulos de grasa) en forma de emulsión en agua, sin embargo, los glóbulos son mucho más complejos que simples gotas de grasa emulsionadas. La zona que está en contacto con el agua se denomina membrana, está constituida por muchos componentes y su estructura es de gran complejidad. Esta membrana representa solo el 2 % del total de grasa, a su vez, no toda la materia grasa organizada en estos glóbulos tiene el mismo punto de fusión y por tanto podemos encontrar diferentes estados físicos en el mismo.

La composición de la grasa láctea es un 97-98% triacilglicéridos (una molécula de glicerol y tres ácidos grasos), el porcentaje restante se constituye de esteroides esterificados y no esterificados de fosfolípidos, y otros componentes. Más de 400 AG han sido identificados en la grasa láctea, la mayoría de estos se encuentran en cantidades mínimas y solo el 15% de ellos se encuentran en cantidades superiores al 1% (Jensen et al., 1991). Generalizando, los AG mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) y oleico (C:18:1cis) son los de mayor cuantía en la leche bovina (Tabla 1; valores promedio de AG en leche bovina)

Existen distintas formas de clasificar los AG. De acuerdo al largo de la cadena carbonada, se clasifican en: cadena corta (4-12 átomos de carbono), media (14-16 átomos de carbono) o larga (18 a 22 átomos de carbono). Según el grado de saturación de los mismos pueden clasificarse en saturados (SAT; sin enlace doble) e insaturados (INSAT: 1 a 4 enlaces dobles). Dentro de estos últimos a su vez se pueden dividir en monoinsaturados (MUFA; 1 enlace doble) y poliinsaturados (PUFA; 2 a 4 enlaces dobles). Según su origen, encontramos en la secreción láctea aquellos sintetizados en el propio tejido mamario denominados AG *de novo* o tomados desde lipoproteínas y AG no esterificados (NEFA) circulantes en el torrente sanguíneo que llega a la glándula mamaria y se denominan preformados (Bauman y Davis, 1974), siendo su origen la absorción de lípidos a nivel del tracto digestivo y de la movilización de grasa de reservas corporales del animal (Barber et al., 1997).

La fracción nitrogenada se encuentra en la matriz láctea en suspensión coloidal (caseína) o en solución (proteínas séricas). Ésta se puede clasificar en dos grandes grupos: las proteínas verdaderas y el nitrógeno no proteico. La proteína verdadera representa alrededor del 95% de la fracción nitrogenada. El 80% de la proteína total son caseínas (proteínas de la leche que precipitan a pH 4,6, siendo este su punto isoeléctrico). El 20% restante son proteínas del suero y son solubles en condiciones normales. Dentro del grupo de las caseínas existen 4 moléculas:  $\alpha$ 1-caseína,  $\alpha$ 2-caseína,  $\beta$ -caseína y  $\kappa$ -caseína y se caracterizan en general por tener un tamaño mediano (aprox. 200 aminoácidos, siendo algo menor la  $\kappa$ -caseína). Todas estas moléculas tienen variantes genéticas, producidas por sustitución de aminoácidos y en algunos casos por depleción (Farell et al., 2004).

Dentro de los minerales que encontramos en la secreción láctea, los principales son potasio, sodio, calcio, magnesio cloro y fosfato. Las sales se encuentran parcialmente ionizadas. También encontramos ácidos orgánicos como iones o como sales, siendo el más abundante el citrato. Finalmente, existen muchos otros componentes en cantidades traza (Walstra et al., 2006).

**Tabla 1.** Perfil de ácidos grasos promedio. Adaptado de Moate et al. (2007).

Ácidos grasos (g/100g)	Media	EEM
C4:0	3.13	0.68
C6:0	1.94	0.52
C8:0	1.17	0.35
C10:0	2.48	0.73
C12:0	2.99	0.85
C14:0	10.38	1.71
C14:1	1.08	0.36
C15:0	1.05	0.33
C16:0	25.18	4.98
C16:1	1.73	0.63
C17:0	0.73	0.35
C18:0	10.51	3.59
C18:1 <i>cis</i>	20.5	5.35
C18:1 <i>trans</i>	4.25	2.63
C18:2 <i>cis</i> (n-6)	3.11	2.13
C18:2 CLA	1.03	0.66
C18:3 (n-3)	0.59	0.36
C20:5 (EPA)	0.1	0.11
C22:6 (DHA)	0.07	0.07
Saturados	58.83	16.89
Monoinsaturados	27.56	8.97
Polinsaturados	4.9	3.33

CLA= ácido linoleico conjugado

EPA= ácido eicosapentanoico

DHA= ácido decosaheptaenoico

#### **d) Síntesis de la grasa de la leche**

Los AG encontrados en leche provienen mayoritariamente de 4 vías: directamente de la dieta, formados en el rumen (por biohidrogenación o degradación bacteriana), liberados de reservas corporales del animal y sintetizados *de novo* en la glándula mamaria (Stoop et al., 2009).

Los AG provenientes de la dieta son aquellos que son ingeridos y escapan del proceso ruminal sin sufrir modificaciones, siendo absorbidos a nivel intestinal (Bauman y Griinari, 2001). Estos se transportan como triglicéridos en complejos denominados lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), y la absorción mamaria depende de la acción de una enzima, la lipasa lipoproteica, que reside en la pared capilar de la célula. Los AG pueden ser grasas inertes, es decir que no sufren modificaciones a nivel ruminal y son absorbidos directamente a nivel intestinal. Si bien la tasa de escape es dependiente en gran medida de la cantidad del AG que entra por la dieta, las bacterias ruminales son altamente eficaces en sus procesos y por tanto la gran mayoría de los AG sufre transformaciones a nivel ruminal. Ejemplos relevantes de esta vía son los ácidos linoleico (C18:2n-6) y linolénico (C18:3), ambos AG provenientes de la dieta y que llegan a la glándula mamaria preformados.

Como se mencionó, el rumen es un lugar de gran actividad metabólica donde las bacterias presentes provocan cambios dramáticos en los lípidos de la dieta, es aquí que surge la divergencia entre el perfil de AG ingeridos (mayoritariamente insaturado) y el perfil de AG que sale del rumen (mayoritariamente saturado). Los dos procesos principales que ocurren a este nivel son la hidrólisis de los enlaces ésteres de los lípidos (lipólisis) y la biohidrogenación de los AG insaturados (Bauman et al., 2003). A su vez, las bacterias sintetizan AG *de novo* a partir de precursores carbonados, por lo tanto, los AG que salen del rumen pueden ser de origen dietario o microbiano. La lipólisis de glicolípidos, fosfolípidos y triglicéridos de la dieta genera AG libres y es el paso previo y obligatorio (necesidad de un grupo carboxilo libre en el AG) a la biohidrogenación de los AG insaturados (Chilliard et al., 2000). Las lipasas responsables de esta reacción son mayoritariamente de origen bacteriano, si bien se ha reportado la existencia de estas enzimas en los protozoarios ruminales, la saliva del animal y en las propias plantas, estas tienen muy baja actividad. *Anaerovibrio lipolytica* es la bacteria identificada como principal responsable en la lipólisis de triglicéridos mientras que *Butyrivibrio fibrisolvens* es para los glicolípidos y fosfolípidos (presentes en los forrajes; Harfoot y Hazlewood, 1988). Los PUFA son isomerizados antes de comenzar el proceso de biohidrogenación. Los dos PUFA que se encuentran en mayor cantidad en la dieta del ganado lechero son los ácidos linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3), las transformaciones ruminales (isomerización y biohidrogenación) que estos sufren en el rumen se presentan en la Figura 1. Como se ha mencionado, la biohidrogenación ruminal reduce considerablemente la cantidad de AG insaturados que llegan al intestino, solo el 8 y el 20% del C18:2 y C18:3 respectivamente escapan del proceso (Chilliard et al., 2000) mientras que C18:0 es el único AG que llega al intestino en mayor cantidad de lo que es consumido en la dieta (Wu et al., 1991). Sin embargo, el proceso de biohidrogenación es incompleto generándose algunos AG insaturados intermedios que escapan del rumen (Chilliard et al., 2000). Por ejemplo, el *cis*-9, *cis*-12 C18:2 es isomerizado a *cis*-9, *trans*-11 C18:2 (CLA), luego es hidrogenado en primer término a *trans*-11 C18:1 (ácido vaccénico) y luego a C18:0 (ácido esteárico). Dado que este último paso es limitante en el proceso, el ácido vaccénico tiende a acumularse (Harfoot y Hazlewood, 1988). Sea por la vía del C18:2 o C18:3,



CoA a partir del acetato y la AG sintasa (FAS) quien condensa el malonil-coA con acetil-CoA o butiril-CoA a partir de acetato o BHB (Barber et al., 1997). Esta reacción produce C14:0 y en mayor medida C16:0.

La incorporación de AG de cadena larga (sin importar su origen) por parte de glándula mamaria es proporcional a la cantidad de estos en el plasma sanguíneo y la absorción de estos depende de una lipasa lipoproteica encontrada en la pared de la célula mamaria. Los AG de cadena larga son potentes inhibidores de la síntesis *de novo* mediante acción directa sobre la enzima ACC, más aun, cuanto más largos en su cadena carbonada y mayor el grado de insaturación, mayor es el efecto inhibitorio (Chilliard et al., 2000). Por lo tanto, cuando este tipo de AG llegan a la glándula mamaria (sean de origen dietario y/o de movilización de reservas), la fracción de AG sintetizados *de novo* experimentan una disminución en leche (Chilliard et al., 2000).

### **e) Calidad composicional de la grasa láctea: impacto en la salud humana y aptitud tecnológica**

La demanda mundial de alimentos ha cambiado en los últimos tiempos, ha incrementado el interés en alimentos de alta calidad en lo que refiere a nutrición y seguridad. A modo de ejemplo en Estados Unidos, la demanda por productos lácteos orgánicos (de base pastoril) supera la producción de los mismos (Croissant et al., 2007).

La materia grasa presente en la leche es una importante fuente para el consumo de AG esenciales para el ser humano. Muchos de éstos son de gran interés por sus características nutraceuticas, benéficas para la salud. Existe una tendencia creciente en aumentar el contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) como omega-3 y el ácido linoleico conjugado (CLA) en la dieta, en especial el segundo por sus propiedades como antioxidante, inhibición de la carcinogénesis y de la aterogénesis, mejoradores de la capacidad del sistema inmune, prevención de la obesidad, efectos antidiabéticos y mejoras en la mineralización ósea (Pariza et al., 2001; Bauman et al., 2001). A su vez, la concentración de CLA permanecería inalterada en productos terminados tales como leche pasteurizada, yogurt o queso blanco untable reflejando una composición similar a la de la leche cruda utilizada en su elaboración. 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) estaría garantizada si la industria parte de una leche natural alta en CLA (Gagliostro, 2004).

Existe evidencia de las ventajas significativas y específicas de los AG de la leche sobre la salud humana, contrario a la percepción pública generalmente negativa de ser un alimento que contiene alto contenido de grasas saturadas. El consumidor asocia a menudo la grasa saturada a riesgo de enfermedad cardiovascular. Sin embargo, los AG saturados en la grasa láctea varían en su estructura y muchos son neutrales o no tienen ningún efecto sobre el colesterol del plasma (Bauman et al., 2006). Estudios epidemiológicos no han encontrado evidencia e incluso han asociado en

forma beneficiosa al consumo de leche y productos lácteos con variables de riesgo de aterosclerosis (Bauman et al., 2006). Los AG saturados de cadena muy corta presentes en la leche (C4:0 a C10:0, 7 a 10% del total de AG) no conducen a elevaciones en el colesterol ni se han asociado a problemas cardiovasculares. Los AG contraindicados son los ácidos láurico (C12:0), mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0) ya que elevan el colesterol plasmático total y el colesterol considerado nocivo (LDL) para el ser humano. Otra cuestión a tener en cuenta refiere a la fracción *trans* de AG de la leche, si bien los AG *trans* se han vinculado a afecciones cardiovasculares por su potencial aterosclerótico, el mayor componente de esta fracción en la leche de los rumiantes es el *trans*-11 C18:1 el cual incluso algunos autores lo categorizan como benéfico para el consumidor (Jutzeler van Wijlen y Colombani, 2010).

Además del interés creciente sobre los aspectos saludables y terapéuticos de la leche (Bauman et al. 2006), los cambios de la composición relativa de AG provocan modificaciones tecnológicas y sensoriales en los productos lácteos. Por ejemplo, el punto de fusión de la materia grasa es más alto cuando la cadena carbonada es más larga y el grado de saturación de los mismos es más elevado. Ciertos compuestos asociados a la materia grasa presentes en cantidades mínimas (esterol, carotenos, etc.) también tienen influencia sobre las características de los productos lácteos. Todo esto impacta sobre características físicas (ej: punto de fusión, dureza, cristalización y fraccionamiento de la grasa láctea) asociándose por ejemplo a una manteca más suave con mejores características de procesamiento y de almacenaje (Fox y McSweeney, 1998). Croissant et al. (2007), compararon la preferencia por parte del consumidor de leche producida en sistemas pastoriles vs DTM, sugiriendo que el sabor y la nutrición son dos factores responsables de la creciente demanda por productos orgánicos.

La alimentación pastoril es favorable en la obtención de leches con mayor contenido de CLA respecto a sistemas de alimentación con DTM (Schroeder et al. 2003). Esto sitúa al sistema productivo regional en base de pasturas en una posición ventajosa respecto a la producción de leche en otros países basada en estabulación. Esta área de investigación ha tenido un gran desarrollo en la última década, ya que es posible a través de la nutrición mejorar la calidad de la leche y tener un impacto natural sobre la salud humana. Es por todo esto que en la actualidad existen algunos lugares donde la industria ha comenzado a hacer un pago diferencial para aquellos productores que integran pastura en la dieta de los animales (The Global Dairy, 2015) cambiando el esquema clásico de pago por calidad donde se valora solo la cantidad de componentes macro.

#### **f) Cambios en los perfiles de ácidos grasos debido a la alimentación**

Desde 1980 hasta el momento han habido esfuerzos en alterar los tres componentes de la leche, pero los mayores cambios se han realizado en la grasa de la leche y en la composición de AG (Jenkins y McGuire, 2006).

La selección genética para aumentar la grasa de la leche generalmente conduce a un aumento de los AG de cadena corta y un decrecimiento de los de cadena larga (Palmquist et al., 1993), relación no beneficiosa para el consumidor. La composición de AG puede ser modificada especialmente por la alimentación y esto podría proveer de un perfil más beneficioso para el humano. Por lo tanto resulta primordial estudiar la composición de la materia grasa de la leche basada en distintas tácticas pastoriles integradas a DPM en comparación con DTM. Varios trabajos han estudiado la relación entre distintas dietas y la composición de leche en términos de perfil de AG y dentro de esto la concentración de componentes nutraceuticos o de mayor interés para el consumidor.

#### *i. Estudios en estabulación con diferentes suplementos*

Existen numerosos estudios en sistemas de estabulación (usando DTM), donde se evalúa la producción de leche y el perfil de AG, lo que es consistente con el hecho de que la mayor parte de creación de conocimiento original disponible, proviene de los países más desarrollados donde los sistemas productivos son intensivos y es donde se invierte más en investigación. Por ejemplo, la suplementación con semillas de girasol -ricas en ácido oleico y linolénico - disminuyó la concentración de materia grasa en leche pero aumentó la concentración de CLA, y al combinarse con aceite de pescado se obtuvo el mayor contenido de CLA; ninguna de éstas combinaciones afectó la producción de leche (AbuGhazaleh et al., 2003). Por otro lado, existen estudios que integran DTM, forraje y suplementos (siempre en estabulación). Loo et al. (2005) estudiaron los efectos de dietas con altas (65:35) y bajas (35:65) cantidades de concentrados y forraje y a su vez el uso de aceite de semilla de lino (3% de materia seca), encontrando un perfil de AG más saludable para la salud humana al bajar la cantidad de concentrado y usar como suplemento el aceite de semilla de lino.

Hallazgos similares documentaron Gao et al. (2009), suplementando con semillas de linaza y soja (7.5% DMI), reportando ausencia de efectos negativos sobre la producción y componentes macro de leche, mientras aumentaron los CLA, los AG monoinsaturados (MUFA) y PUFA, disminuyendo la relación de omega 6/omega 3. A su vez, Dscaak et al. (2011) concluyeron que suplementar con un 3% de la materia seca con semillas de cártamo entera es una estrategia efectiva para aumentar los CLA, MUFA Y PUFA, sin presentar efectos negativos sobre la producción de leche.

La mayoría de los estudios han examinado el uso de aceites marinos o vegetales, semillas oleaginosas o lípidos inertes protegidos de la degradación ruminal, con mucho menos atención puesta en la composición de AG de las pasturas (Dewhurst et al., 2006). Hasta aquí hemos revisado distintas estrategias de producción en estabulación, en nuestro sistema de producción resulta más interesante la cosecha directa del forraje por parte de los animales.

#### *ii. Animales en pastoreo con suplementación*

Se ha reportado un alto potencial de aumentar los niveles de MUFA y PUFA en la leche usando pasto fresco, no obstante, los niveles alcanzados en los sistemas exclusivamente pastoriles son mucho menores que cuando éstos se combinan con concentrados ricos en PUFA o grasas protegidas del metabolismo ruminal (Dewhurst et al., 2005). De todas formas se destaca el uso de forrajes debido al bajo costo y a la imagen positiva con que lo percibe el consumidor final, el cual busca un alimento de mayor valor nutritivo sin demasiado costo agregado (Dewhurst et al., 2006). AbuGhazaleh y Holmes (2007) suplementando vacas en pastoreo con aceite de pescado y semillas de girasol reportaron que la producción de leche, así como materia grasa y proteínas de la misma no difirieron entre tratamientos, mientras que la concentración de *cis*-9, *trans* 11-CLA fue mayor para el grupo suplementado que para el control (1.64 vs 0.84g/100g). De forma similar Flowers et al. (2008) reportaron que el uso de aceite de linaza aumentó de forma proporcional la concentración de *cis*-9, *trans*-11 CLA, sin afectar la producción de leche. Zunong et al. (2009) reportaron que el uso de ensilado de pulpa de papa aumentó la concentración de CLA en la leche de vacas en pastoreo.

### *iii. Uso de pasturas y Dietas Totalmente mezcladas*

La alimentación pastoril respecto a una basada en DTM es favorable en la obtención de leche con un perfil diferencial con aumentos de algunos componentes específicos como C18:3 y CLA (Gagliostro et al., 2003). Esto sitúa al sistema productivo regional en base de pasturas en una posición ventajosa respecto a la producción de leche mundial basada en estabulación.

Croissant et al. (2007) encontraron una tasa menor de AG saturados/insaturados y un 60% más CLA y 45% más de *trans* 11 18:1 (precursor de CLA), MUFA y PUFA en leche en pastoreo que la producida en base a DTM. Similares hallazgos fueron reportados por Ellis et al. (2006), así como una tasa menor de n-6/n-3. Asimismo, Schroeder et al. (2003) encontraron que vacas en pastoreo producen leche reducida en contenido de AG de cadena corta y media (C4 a C14) y con mayor cantidad de C18:3 y CLA frente a vacas alimentadas con DTM. Esto es consistente con reportes que afirman que el aumento en la ingesta de la pastura fresca resulta en un aumento de 2 a 3 veces en el contenido CLA en la leche (Stanton et al. 1997; Kelly et al., 1998; Chilliard et al., 2001; Kraft et al., 2003; Dewhurst et al., 2006). La producción de grasa en leche decrece cuando se suministra dietas altas en concentrados, a su vez el perfil de AG muestra un incremento en la proporción de los de cadena corta y media en relación con los de cadena larga (Lor et al., 2005). Schroeder et al. (2003) concluyeron que vacas en pastoreo experimentan una reducción en la síntesis de AG *de novo* y un incremento de C18:3 y CLA frente a animales alimentados con DTM, incluso usando suplementos para aumentar el consumo de CLA en DTM. Altos contenidos de C18:3 en leche son observados en vacas consumiendo pasturas de alta calidad y esto se debe a el alto contenido de este AG en los forrajes (Dewhurst et al., 2001; Mackle et al., 2003). El contenido de AG insaturados en las pasturas es alto (70-90%) con gran cantidad de linoleico y linolénico (Schroeder et al., 2004). La estrategia más eficaz para aumentar el

contenido de CLA y PUFA de la leche es por lo tanto, la suplementación estratégica de las dietas de vacas en pastoreo (Murphy et al., 1995; Lawless et al., 1998; Flowers et al., 2008).

Los trabajos analizados en su mayoría reportan diferencias en el perfil de AG en leche ante cambios de alimentación contrastantes (DTM vs Pasto) siendo los menos (Loor et al., 2003) los que combinan DTM con diferentes cantidades de consumo de pasto. Recientemente, se han publicado a nivel internacional los resultados de un experimento realizado en nuestro país (Mendoza et al., 2016) donde se ofrece pasto cortado a vacas estabuladas alimentadas en base a DTM, variándose el tiempo de acceso al pasto ofrecido en comederos (sin pastoreo). Estos autores encontraron que el acceso de 8 h al pasto cortado vs 0 h de acceso, generó un consumo de un 16% de MS diaria proveniente de la pastura y esto produjo leche de características más saludables (cantidades aumentadas de *trans*-11 C18:1, *cis* 9-*trans* 11 CLA, y C18:3). En la misma línea, Loor et al. (2003) reportaron diferencias en el perfil de AG de vacas sin pastoreo respecto de vacas pastoreando con un consumo diario de casi un 30% de MS proveniente de la pastura. Este tipo de trabajo donde vacas alimentadas en base a DTM que se combina con momentos de pastoreo agrega más complejidad aún, pues se agrega la posibilidad de selección de pasto por parte del animal y el gasto diferencial de energía que provoca la caminata y el pastoreo. Hemos encontrado otros trabajos donde se combina DTM y pastoreo (Bargo et al., 2006; Morales-Almaraz et al., 2010) que se alinean a los resultados generales descritos anteriormente, sin embargo, todos estos trabajos compararon grupos de animales sometidos a manejos diferenciales en lactancia media y ninguno de los citados evalúa el perfil de AG de vacas sometidas a diferentes tratamientos desde el inicio de la lactancia.

Por otro lado, existen muy pocos estudios enfocados al efecto de cambios de dieta sobre la calidad del producto (en términos de perfiles de AG). A lo largo del año, ocurren desbalances entre la producción de pasturas y requerimientos del rodeo (Chilibroste et al., 2007; Wales et al., 2013) generando que las vacas deban alternar entre momentos de confinamiento siendo alimentadas en base a DTM y otros que cambian a DPM en combinación con pastoreo. Las vacas se adaptan a nuevas dietas o a cambios en el manejo de alimentación por diferentes mecanismos que incluyen patrones de pastoreo diferenciales que le permiten compensar variaciones en la disponibilidad de nutrientes y mantener así la ingesta y la producción (Peyraud et al., 1996; Chilibroste et al., 2012 ; Mattiauda et al. 2013). Khanal et al. (2008) describen una disminución de AG de cadena corta y media y un aumento en el contenido de CLA y C18:3 al pasar vacas de un tratamiento 100% DTM a uno 100% pastoril. No hemos encontrado reportes respecto a cómo se afectan los perfiles de AG cuando animales sometidos a una DTM durante el posparto temprano pasan a un sistema mixto de producción (DPM + pastoreo).

Visto lo anterior, nuestra búsqueda se orienta a observar que sucede en sistemas mixtos, dado que la cadena láctea uruguaya, viene experimentando grandes cambios en la nutrición y en el manejo animal. Esto, sumado a las

tendencias del mercado mundial, exige una comprensión de cómo se ve afectada la fracción de AG de la leche ante dichos cambios.

## CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA

El sector lácteo uruguayo ha experimentado grandes cambios a nivel productivo. En los últimos años se observa una disminución del área dedicada a dicha actividad, así como una baja en el número total de establecimientos. En contraste con esto la producción de leche en litros por hectárea ha ido en aumento, así como la producción de leche en litros por animal. Estos cambios se sustentan por el uso cada vez mayor de concentrados y reservas forrajeras en detrimento del pastoreo directo por parte de los animales.

La alimentación es el factor más influyente en la composición de la materia grasa. Existen en la leche más de 400 AG (algunos esenciales), algunos con propiedades benéficas para el ser humano. Las cantidades de estos AG dependen básicamente de la alimentación del ganado por lo tanto se puede lograr un perfil de AG diferencial con propiedades benéficas para el consumidor. A nivel nacional, se ha reportado que la condición corporal afecta el perfil de AG en vacas sobre pastoreo controlado (Artegoitia et al., 2012), y recientemente se ha demostrado un perfil de AG beneficioso para el consumidor en leche de vacas alimentadas con pasto cortado respecto vacas alimentadas a DTM (Mendoza et al., 2016).

Tomando en cuenta los cambios dinámicos de la alimentación que han tenido lugar en nuestro país para aumentar el consumo de MS, la relevancia del mantenimiento de las pasturas de forma importante para bajar los costos de alimentación (Chilibroste et al., 2011), la buena imagen del sistema pastoril de producción de leche frente al consumidor (Croissant et al., 2007) y para incrementar la calidad de leche en términos del perfil de AG (Schroeder et al., 2003) en estos sistemas, es de interés generar información que nos permita integrar estos aspectos. Se debe considerar que las vacas a inicios de lactancia presentan bajas tasas de consumo en pastoreo y bajos tiempos efectivos de pastoreo, lo cual podría estar limitando el consumo potencial en animales con un tiempo de acceso a la pastura restringido (Chilibroste et al., 2012). Además, sería esperable que en la lactancia temprana el aumento en el tiempo de acceso a la pastura permitiera el aumento en el consumo de MS.

En trabajos con DTM y pasturas, las respuestas productivas dependen directamente de la relación de pastura y DTM de la dieta. Los animales alimentados con 100 % pastura produjeron un 30 % menos leche que animales alimentados con 100 % DTM (White et al., 2002). Cuando las combinaciones se acercan al 50 % de pastura, las diferencias en producción fueron del 16 % (Bargo et al., 2002). Con consumos de 32 % de pastura, Vibart et al. (2008) no encontraron diferencias significativas en leche corregida por grasa respecto a 100 % DTM.

Por otro lado, y como se mencionó anteriormente es conocido que las vacas se adaptan a nuevas dietas o a cambios en el manejo de alimentación, específicamente existen antecedentes de los cambios en el perfil de AG cuando vacas alimentadas con DTM pasan a un régimen 100% pastoril

(Khanal et al., 2008), pero se desconoce el efecto del cambio a un sistema mixto (DPM + 6 h de pastoreo).

En esta tesis se buscó abordar esta problemática examinando por un lado el impacto del uso de DTM vs DPM y pastoreo con diferentes tiempos de acceso durante la lactancia temprana sobre el perfil de AG en leche; y por otro determinando el perfil de AG cuando vacas sometidas a DTM dos meses luego del parto, pasan a la estrategia DPM y pastoreo.

## **HIPÓTESIS**

Es posible modificar las fracciones de ácidos grasos (especialmente ácidos linoleicos conjugados y fracción n-3) usando estrategias de alimentación mixtas vs Dieta Totalmente Mezclada en vacas lecheras durante la lactancia temprana, manteniendo un nivel de producción competitiva. A su vez, un aumento en el tiempo de acceso al pastoreo impactará sobre el perfil de AG. Además, el perfil de AG de la leche reflejará los cambios de dieta, específicamente en vacas siendo alimentadas con DTM durante los primeros dos meses posparto se les ofrece un sistema mixto.

## OBJETIVOS

### a) Objetivo general

Contribuir al conocimiento respecto del impacto de diferentes estrategias de alimentación durante la lactancia temprana sobre el perfil de AG en leche.

### b) Objetivos específicos

Comparar el perfil de AG en leche de vacas multíparas en lactancia temprana alimentadas con DTM *ad libitum* o una dieta mixta compuesta por DPM (50% de la oferta de materia seca; MS) y pastura (50% de la oferta de MS), ofrecida en 6 h de acceso al pastoreo (una sesión) o 9 h de acceso al pastoreo (dos sesiones).

Evaluar el perfil de AG en leche cuando vacas alimentadas en base a DTM durante la lactancia temprana son cambiadas a una dieta mixta (DPM y 6 h de pastoreo) y compararlo con el perfil de AG de vacas alimentadas con la dieta mixta desde el inicio de lactancia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### a) Manejo animal y pre parto

El protocolo experimental fue evaluado y aprobado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA – UdelaR).

Se seleccionaron 27 vacas Holando multíparas ( $4.5 \pm 1.81$  lactancias) de partos de otoño, pertenecientes al rodeo lechero de la Estación Experimental Mario A. Cassinoni, Ruta 3 km 363, Paysandú, Uruguay de Facultad de Agronomía. Las mismas fueron bloqueadas por número de lactancia, fecha probable de parto, condición corporal (CC) y peso corporal 30 días previos al parto. De la semana -8 a la semana -4 pre-parto se realizó un manejo alimenticio del pre-parto, para lograr una CC del rodeo entre 3 y 3,5 (escala de 1 a 5, Edmonson et al., 1989). Durante las cuatro semanas previas al parto se realizó un manejo con ensilaje de maíz como fuente de fibra y concentrado comercial pre parto, minimizando las pérdidas de condición corporal y posibles patologías al parto. Semanalmente se realizaron mediciones de CC y peso vivo, siendo la CC al parto ( $-4 \pm 3$  días al parto) de  $3.2 \pm 0.2$  y un peso vivo de  $753.0 \pm 51.0$  kg.

### b) Diseño experimental y tratamientos

El diseño experimental fue de bloque al azar y los animales fueron asignados a uno de tres tratamientos como fue descrito por Fajardo et al. (2015). Durante un primer periodo, comprendido entre los 0 y 60 días post parto (DPP), los tres tratamientos accedieron diariamente a la misma oferta de alimentos en base seca y fueron los siguientes: a- 100% DTM (G0; n= 9): encierros al aire libre con oferta de DTM *ad-libitum*; b- DPM + pastoreo (G1; n= 10): las vacas luego del ordeño am pastorearon en praderas de 2° o 3° año, con un tiempo de acceso a la pastura de 6 h diarias (0800 a 1400 h). Se suplementó con DTM (50% del peso de la dieta) a los animales en la tarde, luego del ordeño pm, en bateas grupales. c- DPM + 2 pastoreos (G2; n= 8): 9 h de pastoreo en 2 sesiones (0800 a 1400 h y 1700 a 2000 h), se realizó suplementación nocturna (50% del peso de la dieta) con DPM.

En un segundo período comprendido entre los 61 y 90 DPP los tratamientos fueron los siguientes: a- G1: los animales del G1 del primer período fueron mantenidos bajo el mismo tratamiento. b- Post-DTM: Los animales del grupo G0 fueron tratados igual a G1 (50% DPM+ 6 h de pastoreo de 0800 a 1400 h).

### c) Pastura

Luego del parto, las vacas pastorearon sobre pasturas de 2° y 3° año en base a una pastura de *Festuca arundinacea*, *Trifolium repens* y *Lotus corniculatus*, con una asignación objetivo de 17 kg de materia seca por vaca y por día, igual en ambos tratamientos, en potreros alejados 1.7 km de la sala de ordeño. Una nueva franja de pastoreo fue asignada cada semana

estimando 15.0 kg MS/vaca/día sobre los 4 cm. La masa de forraje (kg MS/ha) fue estimada usando el método comparativo de producción adaptado de Haydock y Shaw (1975) con una escala de 5 puntos y tres replicas en áreas representativas de la pastura. Todas las medidas fueron realizadas acorde a Fajardo et al. (2015).

Las vacas G0 fueron alimentadas en base a DTM en una relación forraje/concentrado de 45/55 (Tabla 2). La dieta fue formulada acorde a NRC (2001) ofreciendo diariamente 30 kg MS/d, con la meta de un rechazo del 15% y una producción de leche objetivo de 40 kd/d. A los 49 DPP, la oferta de DTM fue aumentada a 34 kg MS/vaca/d para mantener el rechazo del 15% en el tratamiento G0, y a 17 kg MS/vaca/d en G1 y G2. Acorde a esto, la oferta de pasto fue aumentada para mantener la relación 50% DPM y 50% DTM en los tratamientos de pastoreo (G1 y G2). Sin embargo, las proporciones de consumo registrados en los tratamientos de pastoreo fueron 72.5 % DPM y 27.5 % pastura para las vacas G1 y 65.6 % DPM y 34.4 % pastura para las vacas G2 (Fajardo et al., 2015).

La DTM fue ofrecida 2 veces al día, 40% en la mañana y 60% en la tarde para el tratamiento G0 y para G1 y G2, la DPM fue ofrecida una vez al día en la tarde. Las vacas del G0 fueron mantenidas siempre en confinamiento (potreros a cielo abierto con piso de tierra y cajones de madera para alimentación grupal) acceso libre a la DTM y agua. Las vacas G1 tuvieron acceso al potrero de pastoreo de las 0800 a las 1400 h y luego del ordeño de la tarde fueron mantenidas en confinamiento con acceso a DPM y agua hasta las 0400. Los animales del tratamiento G2 tuvieron acceso al potrero de pastoreo de 0800 a 1400 h y de 1700 a 2000, siendo luego confinados con acceso a DPM y agua hasta las 0400 h. Las condiciones de confinamiento fueron en todos los casos iguales y todas las vacas fueron ordeñadas 2 veces al día a las 0500 y a las 1500 h.

**Tabla 2.** Composición química y perfil de ácidos grasos de la Dieta Totalmente Mezclada y la pastura.

Nutriente	DTM	Pastura del día 45	Pastura del día 65
MS, g/kg	492 ± 29.8	371 ± 21	279 ± 14
PC, g/ kg DM	149 ± 23.7	146 ± 7.4	184 ± 13.9
FND, g/kg MS	348 ± 41.2	531 ± 3.3	427 ± 3.0
FDA, g/kg MS	189 ± 31.0	272 ± 6.8	201 ± 2.5
Ceniza, g/kg MS	72 ± 8.8	10.2 ± 0.7	11.4 ± 0.5
ENL, Mcal/kg	1.63	6.28	1.7
Acidos grasos, g/100g			
C10:0	0.02	0.26	0.46
C14:0	0.11	0.55	0.72
C16:0	19.74	23.15	27.58
C16:1	0.12	0.59	0.62

C18:0	4.63	6.32	6.7
C18:1 <i>cis</i>	29.72	6.56	6.3
C18:2 <i>cis</i> (n-6)	36.97	12.19	12.28
C18:2 <i>trans</i>	0.12	Nd	Nd
C18:3(n-3)	2.35	20.01	20.61
C20:0	0.98	2.35	2.03
C20:1 <i>cis</i>	0.45	Nd	Nd
C20:2 <i>cis</i> (n-6)	0.49	Nd	Nd
C20:4(n-6)	0.32	Nd	Nd
C21:0	0.12	Nd	Nd
C22:0	1.1	4.96	3.87
C22:3	0.3	Nd	Nd
C23:0	0.31	0.97	0.8
C24:0	1.16	4.18	3.81
C25:0	0.17	0.98	1
C26:0	0.27	7.18	7.16
C28:0	0.11	4.65	3.79
n-6/n-3	16.06	0.61	0.60
Grasa, g/100g	7.28	2.05	1.57

nd = no detectado

#### **d) Mediciones experimentales y análisis de muestras**

##### *i. Mediciones en los animales*

La producción de leche se registró diariamente en cada ordeño mediante el uso de medidores Waikato®. Semanalmente se tomaron muestras de leche de cada vaca en el ordeño am y pm con el fin de analizar la composición química de su producción mediante espectrofotometría de infrarrojo cercano (*Near Infrared Reflectance Spectroscopy-NIRS*, Milko-Scan, Fross Electric, Hillerød, Denmark).

##### *ii. Determinación del perfil de ácidos grasos en leche y alimentos*

El perfil de AG fue determinado en muestras de leche a los  $47 \pm 12$  DPP para los tratamientos G0, G1 y G2. Además, para estudiar la adaptación a la dieta G1 de las vacas G0, se determinó el perfil de AG a los  $63 \pm 11$  DPP, dos días después del cambio de dieta en las vacas G0 (Post-DTM) y en las vacas G1 (control). Para simplificar la información el perfil de AG correspondiente al día 47 DPP se definirá como 45 DPP, y el 63 DPP como 65 DPP. Además, se determinó el perfil de AG en una muestra de la DTM usada y una muestra de la pastura correspondiente a cada período (Tabla 2). La grasa láctea se extrajo según Folch (1957) (los solventes de extracción fueron: Metanol y Cloroformo) y luego se realizó una metilación de los ácidos grasos según el 25 procedimiento del descrito por IUPAC

2.301 (Mossoba et al., 1996). Los ésteres metílicos de los AG fueron identificados y cuantificados utilizando un cromatógrafo gaseoso (Agilent Technologies 6890, Palo Alto, CA, USA) conectado a un espectrómetro de masa (Agilent Technologies 5973) con ionización por impacto electrónico. Se usó una columna capilar SP 2560 (100 m × 0.25 mm i.d. con 0.2- $\mu$ m espesor del film; Supelco Inc., Bellefonte, PA). Los valores de temperatura del horno del cromatógrafo gaseoso, los valores de presión y el flujo del gas helio, así como las temperaturas de la fuente de ionización y del cuadrupolo del espectrómetro de masa y el rango de masas fueron descritos previamente (Moore et al., 2004 - 2005). Se identificó cada uno de los AG por su tiempo de retención y el espectro de masa característico. Se cuantificó el porcentaje de cada uno por normalización de las áreas de cada AG, obteniéndose el porcentaje másico de cada uno. Las muestras fueron corridas en duplicados y el estándar FAME (Supelco 47885-U, Bellefonte; 37 FAME from C4:0 to C24:0) fue analizado a intervalos regulares con propósitos de control de calidad, y determinar factores de corrección para cada AG individual. Los CVs intra e inter ensayo para cada analito medido fueron en promedio 3-6% respectivamente. La composición de AG de la grasa láctea y de los alimentos fue expresada como gramos de cada AG individual por 100 gramos del total de AG. Los isómeros de CLA fueron reportados como la suma de todos los isómeros de linoleico con dobles enlaces conjugados *cis* y *trans*.

#### **e) Análisis estadístico**

Los datos fueron analizados usando el paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc., 2005 Cary, NC, USA.). Los datos de producción, composición y las fracciones de AG en leche fueron analizados en un diseño de bloques al azar usando medidas repetidas, mediante el procedimiento MIXED, con el tratamiento, día posparto e interacción como efectos fijos y el bloque como efecto aleatorio. Se utilizó el procedimiento de Kenward-Rogers para ajustar el grado del denominador de libertad. Se realizaron pruebas de Tukey-Kramer para la separación de las medias. Las medias se reportaron como medida de los mínimos cuadrados con sus respectivos errores estándar y fueron consideradas diferentes cuando  $P \leq 0.05$  y las tendencias fueron identificados cuando  $0.05 < P \leq 0.10$ .

## RESULTADOS

### a) Efecto de la estrategia de alimentación en lactancia temprana sobre el perfil de ácidos grasos a los 45 DPP

La producción de leche (38.5, 33.6, 36.2 ± 1.6 L/d para G0, G1, G2, respectivamente), grasa (4.14, 3.73, 3.40 ± 0.31 g/100g para G0, G1, G2, respectivamente) y lactosa (4.93, 4.94, 4.86 ± 0.08 g/100g para G0, G1, G2, respectivamente), no mostraron diferencias entre los tratamientos. El contenido de proteína (3.37, 3.11, 2.99 ± 0.07 g/100g para G0, G1, G2, respectivamente), fue mayor en G0 que para los tratamientos pastoriles (G1 y G2; p = 0.011) en la 7ª semana de lactación, correspondiente a la semana donde se determinó el perfil de AG (Tabla 3)

**Tabla 3.** Producción y composición de leche de vacas alimentadas con Dieta totalmente mezclada (G0), 50% Dieta Parcialmente Mezclada (DPM) y 6 h de acceso a pastoreo en una sesión (G1), 50% DPM y 9 h de acceso a pastoreo en dos sesiones (G2) a la 7ª y 9ª Semana.

Estrategia de alimentación	7ª SL					9ª SL			
	G0	G1	G2	EEM	p-valor	Post-DTM	G1	EEM	p-valor
Leche, L/d	38.46	33.60	36.19	1.60	0.123	36.72	37.08	1.83	0.900
Sólidos, g/100g	12.45	11.79	11.25	0.39	0.161	12.81	12.10	0.33	0.191
Grasa, g/100g	4.14	3.73	3.40	0.31	0.299	4.58	3.80	0.30	0.123
Proteína, g/100g	3.37 <sup>a</sup>	3.11 <sup>b</sup>	2.99 <sup>b</sup>	0.07	0.011	3.34	3.26	0.07	0.424
Lactosa, g/100g	4.93	4.94	4.86	0.08	0.751	4.99	5.01	0.08	0.850

Sólidos= Grasa+Proteína+Lactosa

<sup>a,b</sup>medias con superíndices diferentes difieren (p < 0.05)

La fracción *de novo* de AG en la grasa láctea fue mayor para los grupos G0 y G1 que para G2 (Tabla 4). Los ácidos cáprico y mirístico (C10:0, C14:0, respectivamente), que representaron el 65% del total de esta fracción, no mostraron diferencias entre G0 y G1, pero fueron menores en leche de las vacas G2. El ácido láurico (C12:0; 14% del total de la fracción *de novo*) fue diferente entre los tratamientos, siendo mayor en G0 y menor en G2. El ácido pentadecílico (C15:0) tendió a ser mayor en G0 que en G2, mientras que los ácidos caproico y caprílico (C6:0 y C8:0 respectivamente; Tabla 5) tendieron a ser mayores en G1 que en G2.

**Tabla 4.** Componentes de ácidos grasos de vacas alimentadas con Dieta Totalmente Mezclada (G0), 50% Dieta Parcialmente Mezclada (DPM) y 6 h de acceso a pastoreo en una sesión (G1), 50% DPM y 9 h de acceso a pastoreo en dos sesiones (G2) a los 45 Días Post-Parto.

	Tratamientos			EEM	P-valor
	G0	G1	G2		
Origen de ácidos grasos, g/100g de ácido graso					
De novo (C4:0-C15:1)	23.09 <sup>a</sup>	20.07 <sup>a</sup>	15.34 <sup>b</sup>	1.38	0.004
Origen mixto (C16:0 + C16:1)	37.3	34.91	34.66	1.83	0.561
Preformados (>C17:0)	39.49 <sup>b</sup>	45.10 <sup>a,b</sup>	50.09 <sup>a</sup>	2.68	0.045
Saturación de ácidos grasos, g/100g de ácido graso					
Saturados	68.73	64.67	64.45	2.15	0.335
Monoinsaturados	27.09	30.91	31.16	1.95	0.301
Polinsaturados	4.12	4.41	4.43	0.23	0.588
Saturados/Insaturados	2.35	1.93	1.84	0.21	0.235
n-3	0.41 <sup>b</sup>	0.66 <sup>a</sup>	0.79 <sup>a</sup>	0.06	0.005
n-6	2.75 <sup>a</sup>	2.05 <sup>b</sup>	1.99 <sup>b</sup>	0.07	<0.001
n-6/n-3	8.31 <sup>b</sup>	3.48 <sup>a</sup>	2.64 <sup>a</sup>	0.67	<0.001
<i>Trans</i>	2.79 <sup>b</sup>	5.19 <sup>a</sup>	5.94 <sup>a</sup>	0.42	0.001
C14:1/C14:0	0.08 <sup>a</sup>	0.08 <sup>a</sup>	0.05 <sup>b</sup>	0.01	0.013
C16:1/C16:0	0.06	0.06	0.04	0.01	0.205
C18:1/C18:0	2.60	2.73	2.02	0.27	0.162
Δ9I	0.30	0.31	0.30	0.02	0.783
RCLA	0.23	0.21	0.15	0.03	0.200

Δ9I: actividad desaturasa; (C16:1 *cis* + C18:*cis* + C18:2 CLA + C14:1 *cis*)/(C14:0 + C16:0 + C18:0 + C18:1 *trans* + C16:1 *cis* + C18:1 *cis* + C18:2 CLA)

RCLA: C18:2 CLA/C18:1 *trans*

<sup>a,b</sup> medias con diferentes superíndices difieren ( $p < 0.05$ )

La proporción de AG de origen mixto en la grasa láctea no fue diferente entre los tratamientos (Tabla 4). Sin embargo, el ácido palmitoleico (C16:1 *cis*) mostró una tendencia ( $p = 0.067$ ) a ser mayor en la leche de vacas G0 y G1 que vacas G2.

El contenido de AG preformados en la grasa láctea fue mayor (+27%) para las vacas G2 que en las vacas G0 ( $p = 0.045$ ), mientras que no se encontraron diferencias entre estos grupos y G1. El ácido esteárico (C18:0; representando un 25% de la fracción de preformados en leche) fue aproximadamente un 30% mayor para G2 que para los otros dos tratamientos (G0 y G1,  $p < 0.05$ ).

**Tabla 5.** Perfil de ácidos grasos de vacas alimentadas con Dieta Totalmente Mezclada (G0), 50% Dieta Parcialmente Mezclada (DPM) y 6 h de acceso a pastoreo en una sesión (G1), 50% DPM y 9 h de acceso a pastoreo en dos sesiones (G2) a los 45 DPP.

	Tratamientos			EEM	P-valor
	G0	G1	G2		
Ácido graso (g/100g)					
C6:0	0.44 <sup>x,y</sup>	0.47 <sup>x</sup>	0.30 <sup>y</sup>	0.05	0.076
C8:0	0.58 <sup>x,y</sup>	0.53 <sup>x</sup>	0.36 <sup>y</sup>	0.06	0.057
C10:0	2.23 <sup>a</sup>	1.82 <sup>a</sup>	1.16 <sup>b</sup>	0.19	0.003
C11:0	0.10 <sup>a</sup>	0.06 <sup>a,b</sup>	<0.01 <sup>b</sup>	0.02	0.027
C12:0	3.69 <sup>a</sup>	2.74 <sup>b</sup>	1.87 <sup>c</sup>	0.26	0.001
C12:1 <i>cis</i>	0.14 <sup>a</sup>	0.08 <sup>b</sup>	<0.01 <sup>c</sup>	0.01	<0.001
C13:0	0.24	0.17	0.16	0.03	0.119
C14:0	11.98 <sup>a</sup>	11.09 <sup>a</sup>	9.39 <sup>b</sup>	0.63	0.031
C14:1 <i>cis</i>	0.98 <sup>a</sup>	0.85 <sup>a</sup>	0.49 <sup>b</sup>	0.08	0.001
C15:0	2.29 <sup>x</sup>	1.93 <sup>x,y</sup>	1.57 <sup>y</sup>	0.21	0.089
C16:0	35.28	32.98	33.22	1.82	0.634
C16:1 <i>cis</i>	1.78 <sup>x</sup>	1.72 <sup>x</sup>	1.26 <sup>y</sup>	0.16	0.067
C16:1 <i>trans</i>	0.25	0.2	0.18	0.08	0.812
C17:0	1.66	1.81	1.88	0.16	0.659
C18:0	9.60 <sup>b</sup>	10.51 <sup>b</sup>	13.95 <sup>a</sup>	0.92	0.009
C18:1 <i>cis</i>	21.09	23.23	23.65	1.69	0.552
C18:1 <i>trans</i>	2.04 <sup>b</sup>	4.01 <sup>a</sup>	4.71 <sup>a</sup>	0.34	<0.001
C18:2 <i>cis</i> (n-6)	2.49 <sup>a</sup>	1.71 <sup>b</sup>	1.83 <sup>b</sup>	0.1	<0.001
C18:2(CLA)	0.39	0.75	0.65	0.12	0.118
C18:2 <i>trans</i>	0.47 <sup>b</sup>	0.86 <sup>a</sup>	1.00 <sup>a</sup>	0.07	<0.001
C18:3(n-3)	0.28 <sup>c</sup>	0.54 <sup>b</sup>	0.74 <sup>a</sup>	0.05	<0.001
C19:0	0.14 <sup>y</sup>	0.22 <sup>x,y</sup>	0.39 <sup>x</sup>	0.07	0.072
C19:1	0.11	0.09	0.05	0.02	0.17
C20:0	0.15 <sup>b</sup>	0.14 <sup>b</sup>	0.18 <sup>a</sup>	0.01	0.016
C20:4(n-6)	0.15 <sup>a</sup>	0.11 <sup>b</sup>	0.10 <sup>b</sup>	0.01	0.002
Otros	1.16	1.34	0.95	0.13	0.115

CLA: ácido linoleico conjugado

Otros: C4:0 + C15:1 + C16:2 + C17: 1*cis* + C18:2*cis* + C18:2*trans*(n-6) + C18:3*cis* + C18:3(n-6) + C20:1*cis* + C20:1*trans* + C20:2*cis* (n-3) + C20:2 *cis* (n-6) + C20:3 *cis* (n-3) + C20:3 (n-6) + C20:4 (n-3) + C20:5 (n-3) + C21:0 + C22:0 + C22:1*cis* + C22:3 + C22:4 + C22:5 (n-3) + C22:5 (n-6) + C23:0 + C24:0 + C24:1*cis* + C25:0 + C26:0

<sup>a,b,c</sup> medias con diferentes superíndices difieren ( $p < 0.05$ )

<sup>x,y</sup> medias con diferentes superíndices difieren ( $0.05 < p \leq 0.10$ )

La estrategia de alimentación en lactancia temprana no afectó el grado de saturación de los AG (SAT, MUFA y PUFA), ni la relación saturado/insaturado (Tabla 4).

El contenido de CLA en leche no fue afectado por los tratamientos ( $p < 0.12$ ). La fracción *trans* en leche fue mayor en los tratamientos pastoriles (G1 y G2) que en G0 ( $p = 0.001$ ), lo que es atribuible principalmente a diferencias en la cantidad de ácido vaccénico (C18:1*trans*;  $p < 0.001$ ) y al ácido linoleico (C18:2*trans*;  $p < 0.001$ ).

El monto de ácido linolénico [C18:3(n-3)] que representó el 84% del total de AG n-3 de la grasa láctea fue mayor para las vacas G2 y menor para las vacas G0 (Tabla 5). El total de AG n-3 fue mayor para ambos tratamientos G1 y G2 que para G0,  $p < 0.005$ . En contraste, la fracción n-6 fue mayor en G0 que en G1 y G2, esto sucedió principalmente a causa del contenido de ácido linoleico [18:2*cis*(n-6); 89% del total de la fracción n-6 FA en leche] que fue mayor en G0 que en G1 y G2 ( $p < 0.001$ , Tabla 5).

Estos resultados determinaron que la relación n-6/n-3 en leche fuera casi tres veces mayor en vacas G0 que en G1 y G2 ( $p < 0.001$ ).

La relación C14:1/C14:0 fue menor ( $p < 0.013$ ) en el grupo G2 que en G0 y G1, mientras C16:1/C16:0, C18:1/C18:0 y la actividad delta-9-desaturasa no mostraron diferencias entre los tratamientos.

#### **b) Efecto del cambio a 6 horas de pastoreo luego de DTM en el perfil de ácidos grasos a los 65 DPP**

La producción de leche (36.7 y 37.1  $\pm$  1.8 L/d para Post-DTM y G1 respectivamente), grasa (4.58 y 3.80  $\pm$  0.30 g/100g para Post-DTM y G1 respectivamente) proteína (3.34 y 3.26  $\pm$  0.07 g/100g para Post-DTM y G1 respectivamente) y lactosa (4.99 y 5.01  $\pm$  0.08 g/100g para Post-DTM y G1) no mostraron diferencias entre los tratamientos a los 65 DPP (Tabla 3).

La fracción de AG *de novo* tendió ( $p < 0.1$ ) a estar afectada por DPP y por la interacción tratamiento por DPP ( $p = 0.102$ ). Mientras los AG *de novo* en las vacas G1 fueron similares entre los 45 y 65 DPP, cuando las vacas G0 fueron cambiadas a 6 h de pastoreo (dieta de las vacas G1) redujeron la fracción *de novo* de AG ( $p < 0.05$ , Tabla 6); principalmente debido a una disminución en C12:0 y C14:0 desde 45 a 65 DPP en vacas DTM, y en menor medida de C15:0 y del ácido miristoleico (C14:1*cis*) (Tabla 7).

La fracción de AG preformados fue afectada por la interacción entre tratamiento y DPP ( $p = 0.021$ ), mientras esta fracción se incrementó en las vacas Post-DTM desde los 45 a 65 DPP, se mantuvo en el grupo G1 (Tabla 6).

En este sentido, el ácido esteárico (C18:0) y el ácido vaccénico (C18:1*trans*) aumentaron cuando las vacas G0 fueron cambiadas a la pastura (Tabla 7), mientras que el contenido de ambos se mantuvo en las vacas G1.

**Tabla 6.** Efecto del cambio a 50% Dieta Parcialmente Mezclada (DPM) y 6 h de pastoreo en una sesión (Post-DTM) luego de 100% Dieta Totalmente Mezclada (G0) y 50% DPM y 6 h de pastoreo en una sesión (G1; como control).

Variable	Días	Tratamientos			P-valor		
		G0/Post DTM	G1	EEM	T	P	P*T
Origen de ácido graso, g/100g de ácido graso							
De novo (C4:0-C15:1)	45	23.17 <sup>a</sup>	19.69 <sup>ab</sup>	1.56	0.502	0.094	0.102
	65	18.68 <sup>b</sup>	19.64 <sup>ab</sup>				
Origen mixto (C16:0 + C16:1)	45	36.27	34.8	2.1	0.763	0.168	0.166
	65	31.77	34.82				
Preformados (>C17:0)	45	40.50 <sup>b</sup>	45.50 <sup>ab</sup>	2.92	0.921	0.026	0.021
	65	49.54 <sup>a</sup>	45.30 <sup>ab</sup>				
Saturación de ácido graso, g/100g de ácido graso							
Saturados	45	67.43	64.63	2.56	0.772	0.070	0.331
	65	61.94	62.87				
Monoinsaturados	45	28.21	31.01	2.30	0.771	0.046	0.222
	65	33.47	32.40				
Polinsaturados	45	4.04	4.32	0.35	0.494	0.224	0.840
	65	4.59	4.72				
Saturados/Insaturados	45	2.26	1.92	0.24	0.821	0.088	0.124
	65	1.69	1.89				
n-3	45	0.42 <sup>b</sup>	0.67 <sup>a</sup>	0.08	0.079	0.611	0.192
	65	0.55 <sup>ab</sup>	0.61 <sup>a</sup>				
n-6	45	2.93 <sup>a</sup>	2.03 <sup>b</sup>	0.16	0.013	0.398	0.032
	65	2.52 <sup>c</sup>	2.23 <sup>bc</sup>				
n-6/n-3	45	8.52 <sup>a</sup>	3.36 <sup>b</sup>	0.75	0.009	0.018	0.001
	65	4.69 <sup>b</sup>	4.35 <sup>b</sup>				
<i>Trans</i>	45	2.85 <sup>b</sup>	5.27 <sup>a</sup>	0.46	0.022	0.053	0.004
	65	4.50 <sup>a</sup>	4.87 <sup>a</sup>				
C14:1/C14:0	45	0.08 <sup>xy</sup>	0.07 <sup>y</sup>	0.01	0.975	0.645	0.071
	65	0.08 <sup>xy</sup>	0.08 <sup>x</sup>				
C16:1/C16:0	45	0.06	0.06	0.01	0.910	0.482	0.730
	65	0.06	0.07				
C18:1/C18:0	45	2.65	2.69	0.32	0.459	0.389	0.455
	65	2.69	3.19				

Δ9I	45	0.31	0.31	0.03	0.871	0.098	0.595
	65	0.35	0.34				
RCLA	45	0.23	0.18	0.04	0.617	0.457	0.510
	65	0.24	0.25				

Δ9I: actividad desaturasa; (C16:1 *cis* + C18: *cis* + C18:2 CLA + C14:1 *cis*)/(C14:0 + C16:0 + C18:0 + C18:1 *trans* + C16:1 *cis* + C18:1 *cis* + C18:2 CLA)

RCLA: C18:2 CLA/C18:1 *trans*

<sup>a,b,c</sup> medias con diferentes superíndices difieren ( $p < 0.05$ )

<sup>x,y</sup> medias con diferentes superíndices difieren ( $0.05 < p \leq 0.10$ )

El contenido de C18:2(CLA) fue afectado por el tratamiento y mostró una tendencia a ser afectado por los DPP. La leche de las vacas G0 tendió a presentar un aumento de CLA desde los 45 a los 65 DPP (Tabla 7), cuando fueron cambiadas de dieta. A los 65 DPP no se observaron diferencias en el contenido de CLA entre los grupos.

La fracción de AG n-3 aumentó con el cambio a pastoreo (G0 a Post-DTM) (Tabla 6); esto fue debido principalmente al incremento observado en el C18:3(n-3) en la leche de estas vacas (Tabla 7). En las vacas Post-DTM, la fracción n-6 disminuyó del día 45 al 65 (Tabla 6), principalmente explicado por una disminución en el C18:2 *cis* (n-6) y araquidónico [C20:4(n-6)] en el mismo sentido (Tabla 7).

**Tabla 7.** Efecto del cambio a 50% Dieta Parcialmente Mezclada (DPM) y 6 h de pastoreo en una sesión (Post-DTM) luego de 100% Dieta Totalmente Mezclada (G0) y 50% DPM y 6 h de pastoreo en una sesión (G1; como control).

	Días	Tratamientos			P-valor		
		G0/Post DTM	G1	EEM	T	P	P*T
C6:0	45	0.38	0.44	0.08	0.338	0.473	0.154
	65	0.58	0.36				
C8:0	45	0.53	0.5	0.08	0.235	0.81	0.443
	65	0.57	0.42				
C10:0	45	2.19	1.75	0.24	0.247	0.337	0.56
	65	1.82	1.66				
C10:1	45	0.16	0.11	0.01	0.105	0.301	0.218
	65	0.12	0.12				
C11:0	45	0.11 <sup>a</sup>	0.05 <sup>ab</sup>	0.02	0.55	0.003	0.018
	65	0.02 <sup>b</sup>	0.04 <sup>b</sup>				
C12:0	45	3.77 <sup>a</sup>	2.68 <sup>b</sup>	0.31	0.214	0.035	0.026
	65	2.63 <sup>b</sup>	2.72 <sup>b</sup>				
C12:1 <i>cis</i>	45	0.13	0.07	0.02	0.215	0.216	0.153
	65	0.06	0.08				
C13:0	45	0.24	0.17	0.03	0.303	0.013	0.148

	65	0.13	0.14				
C14:0	45	11.97 <sup>x</sup>	10.95 <sup>xy</sup>	0.63	0.924	0.045	0.061
	65	10.00 <sup>y</sup>	10.87 <sup>xy</sup>				
C14:1 <i>cis</i>	45	0.99 <sup>a</sup>	0.81 <sup>ab</sup>	0.09	0.995	0.231	0.018
	65	0.73 <sup>b</sup>	0.91 <sup>ab</sup>				
C15:0	45	2.34 <sup>a</sup>	1.90 <sup>ab</sup>	0.22	0.755	0.044	0.039
	65	1.64 <sup>b</sup>	1.91 <sup>ab</sup>				
C16:0	45	34.28	32.94	2.13	0.775	0.208	0.235
	65	30.01	32.82				
C16:1 <i>cis</i>	45	1.82 <sup>x</sup>	1.69 <sup>xy</sup>	0.16	0.683	0.429	0.098
	65	1.51 <sup>y</sup>	1.81 <sup>xy</sup>				
C16:1 <i>trans</i>	45	0.19	0.18	0.07	0.138	0.894	0.631
	65	0.13	0.21				
C17:0	45	1.66	1.83	0.12	0.656	0.159	0.347
	65	1.94	1.89				
C18:0	45	9.50 <sup>b</sup>	10.73 <sup>ab</sup>	0.96	0.555	0.661	0.035
	65	11.76 <sup>a</sup>	9.20 <sup>b</sup>				
C18:1 <i>cis</i>	45	22.09	23.33	2.01	0.897	0.037	0.248
	65	26.7	24.78				
C18:1 <i>trans</i>	45	2.01 <sup>b</sup>	4.10 <sup>a</sup>	0.4	0.02	0.026	0.006
	65	3.56 <sup>a</sup>	3.89 <sup>a</sup>				
C18:2 <i>cis</i> (n-6)	45	2.67 <sup>a</sup>	1.69 <sup>b</sup>	0.16	0.005	0.98	0.018
	65	2.36 <sup>a</sup>	2.00 <sup>b</sup>				
C18:2(CLA)	45	0.35 <sup>by</sup>	0.68 <sup>abx</sup>	0.14	0.017	0.063	0.655
	65	0.77 <sup>abx</sup>	0.93 <sup>a</sup>				
C18:2 <i>trans</i>	45	0.48	0.85	0.09	0.068	0.485	0.141
	65	0.68	0.77				
C18:3(n-3)	45	0.30 <sup>by</sup>	0.55 <sup>a</sup>	0.07	0.007	0.267	0.178
	65	0.48 <sup>abx</sup>	0.53 <sup>a</sup>				
C19:0	45	0.13	0.25	0.08	0.481	0.828	0.491
	65	0.21	0.21				
C19:1	45	0.09	0.08	0.04	0.506	0.449	0.976
	65	0.12	0.12				
C20:0	45	0.15	0.14	0.02	0.408	0.118	0.984
	65	0.13	0.11				
C20:4(n-6)	45	0.16 <sup>x</sup>	0.11 <sup>y</sup>	0.02	0.274	0.042	0.061
	65	0.09 <sup>y</sup>	0.10 <sup>y</sup>				
Otros	45	1.2	1.33	0.13	0.863	0.63	0.321
	65	1.28	1.11				

---

CLA: ácido linoleico conjugado

Otros: C4:0 + C15:1 + C16:2 + C17: 1 *cis* + C18:2 *cis* + C18:2 *trans*(n-6) + C18:3 *cis* + C18:3(n-6) + C20:1 *cis* + C20:1 *trans* + C20:2 *cis* (n-3) + C20:2 *cis* (n-6) + C20:3 *cis* (n-3) + C20:3 (n-6) + C20:4 (n-3) + C20:5 (n-3) + C21:0 + C22:0 + C22:1 *cis* + C22:3 + C22:4 + C22:5 (n-3) + C22:5 (n-6) + C23:0 + C24:0 + C24:1 *cis* + C25:0 + C26:0

<sup>a,b</sup> medias con diferentes superíndices difieren ( $p < 0.05$ )

<sup>x,y</sup> medias con diferentes superíndices difieren ( $0.05 < p \leq 0.10$ )

La relación n-6/n-3 mostró una interacción significativa entre el tratamiento y los DPP (Tabla 6). Mientras que en el grupo Post-DTM se observó una disminución, no se observaron diferencias en el G1.

La fracción *trans* de AG fue afectada por la interacción ( $p = 0.004$ ) del tratamiento y los DPP, mientras aumentó en las vacas Post-DTM, no se observaron cambios en G1 (Tabla 6). Esto se debe principalmente al aumento en C18:1 *trans* en la leche de las vacas Post-DTM a los 65 DPP comparado con 45 DPP.

## DISCUSIÓN

### a) Efecto de la estrategia de alimentación en lactancia temprana sobre el perfil de ácidos grasos a los 45 DPP

La producción de leche y composición grasa durante la semana correspondiente a la determinación del perfil de AG no fue afectada por los tratamientos. La producción de leche diaria durante los primeros 60 DPP en este mismo experimento (Fajardo et al., 2015), fue mayor en las vacas G0 que en G1 y G2 (37.2, 33.7 y 33.9 L/d para G0, G1 y G2, respectivamente; Fajardo et al., 2015). Cabe señalar que además del número de observaciones y periodo analizado, el número de animales de la presente tesis es menor que el experimento realizado (Fajardo et al., 2015). La producción total de grasa no difirió en la presente tesis así como tampoco en el trabajo mencionado, sin embargo, se encontraron diferencias importantes en el consumo de alimento (26.1, 20, 21.8 kg/MS/d, respectivamente; Fajardo et al., 2015). Vibart et al. (2008) sugirieron una mayor eficiencia de conversión cuando las vacas lecheras incluyen pastura en su dieta respecto DTM.

El contenido de AG *de novo* y preformados fue afectado por la estrategia de alimentación a los 45 DPP. El grupo G2 presentó mayor cantidad de AG preformados que G0 y estos resultados son consistentes con reportes previos donde se compararon tratamientos DTM vs DPM + pastoreo (Loor et al., 2003; Bargo et al., 2006; Morales-Almaráz et al., 2010). El mayor contenido de AG preformados puede ser explicado por un incremento en la utilización de lípidos consumidos, un aumento en la movilización de grasa corporal o ambos (Palmquist et al., 1993). Los sistemas basados en dietas pastoriles conducen a un consumo mayor de AG de cadena larga insaturados siendo el C18:3 el más importante en cantidad (50 -75%; Dewhurst et al., 2006). Curiosamente, en este trabajo se encontraron menores cantidades de C18:3 (20%) que lo esperado, mientras se observaron altos contenidos de AG saturados de cadena muy larga (C20-C28). Estos últimos son considerados ceras que se localizan en la cutícula de las hojas y aumentan bajo condiciones de sequía, como sucedió en este estudio (Fajardo et al., 2015), con el fin de prevenir pérdidas de agua (Millar et al., 1998). Además de esta composición particular, otras modificaciones físico-químicas ocurren en las plantas en respuesta al estrés por sequía, por ejemplo, el incremento de metabolitos secundarios como los fenoles, compuestos que tienen la capacidad de disminuir la lipólisis y la biohidrogenación en el rumen (Buccioni et al., 2012). Entonces, podría postularse que la mayor cantidad de AG preformados insaturados en la leche de las vacas G2 sea el resultado de los AG de origen dietario sumado a una menor biohidrogenación a nivel ruminal.

La movilización lipídica también puede explicar el mayor contenido de AG preformados en la leche de vacas G2, de hecho las vacas de este grupo perdieron más condición corporal (Fajardo et al., 2015). El ácido esteárico (C18:0) y oleico (C18:1*cis*) son predominantes en los adipocitos y son liberados durante la lipólisis (Rukkwamsuk et al., 2000). Sin embargo, C18:1*cis* que representó casi el 23% de los AG en leche no mostró

diferencias entre los tratamientos, mientras C18:0 fue mayor en el grupo G2 que en G0. Rukkhuamsuk et al. (2000) han sugerido que los AG circulantes provenientes de la lipólisis (incluido el C18:1 *cis*) se acumulan en el hígado a excepción del C18:0, quien sería secretado en gran proporción en leche, lo que es consistente con nuestros resultados. Además, los AG *de novo* fueron menores en las vacas G2 respecto de G0; de hecho, los AG de cadena larga ejercen un efecto inhibitorio sobre la síntesis en la glándula mamaria (Dhiman et al., 1999) y esta inhibición es más potente cuanto más larga es la cadena carbonada y mayor el grado de insaturación de los mismos (Chilliard et al., 2000). A su vez, se encontraron diferencias en la cantidad de AG *de novo* entre los tratamientos pastoriles, incluso considerando diferencias en el consumo de pastura de un 7% (Fajardo et al., 2015).

En contraste con varios reportes (Loor et al., 2003; Bargo et al., 2006; Morales-Almaráz et al., 2010) no se encontraron diferencias en el contenido de CLA entre los tratamientos. Loor et al. (2003) y Morales-Almaraz et al. (2010), reportaron mayores contenidos de CLA al comparar 100% DTM vs DPM y pastoreo (ambos experimentos con un mínimo de consumo de MS diario de 21,5% de pastura). Debe tenerse en cuenta que estos estudios fueron realizados en lactancia tardía o media (185 o 94 DPP, respectivamente), mientras que en nuestro trabajo el perfil de AG fue realizado a los 45 DPP. Esto es de particular relevancia ya que el momento de la lactancia influye sobre el perfil de AG y específicamente el contenido de CLA aumenta con el transcurso de ésta (Stoop et al., 2009). La gran mayoría de CLA en leche es sintetizado en la glándula mamaria vía desaturación del ácido vaccénico (C18:1 *trans*) por la delta 9 desaturasa (Bauman et al., 2000). Aunque el contenido de CLA en leche no fue diferente entre los tratamientos, la cantidad de C18:1 *trans* fue el doble en los tratamientos G1 y G2 cuando se compararon con G0, en concordancia con trabajos previos (Morales-Almaraz et al., 2010). De hecho, Peterson et al. (2002) reportaron una alta ( $r = 0.61$ ) correlación positiva entre estos dos AG. El C18:1 *trans* es un producto mayoritariamente originado de la biohidrogenación incompleta a nivel ruminal del C18:3 (Griinari y Bauman, 1999) y C18:2. Entonces, cuando los alimentos aportan cantidades importantes de C18:3 y C18:2, el C18:1 *trans* generado es absorbido luego de su salida del rumen (Bauman y Griinari, 2001).

De forma similar, la fracción n-3 en leche fue mayor para los tratamientos pastoriles que para G0. El contenido de ácido linolénico (C18:3n-3) en la grasa láctea fue el mayor para G2 y el menor para G0. Esto es consistente con Morales-Almaraz et al. (2010) donde encontraron mayores cantidades de C18:3n-3 con 12 h vs 6 h de pastoreo (con una diferencia de 12.7% de consumo de MS diaria de pastura) y la menor cantidad en el tratamiento 100% DTM. Sin embargo, Bargo et al. (2006) no encontraron diferencias entre tratamientos (aun incluyendo un 30% de pastura en la dieta) y estos autores sugirieron distinto grado de biohidrogenación en sistemas mixtos. Dado que los tejidos de los rumiantes no sintetizan este AG (Chilliard et al., 2000), el incremento del mismo en la grasa láctea en nuestro estudio se explica por el pastoreo (con alta proporción de C18:3; 20% en pastura vs 2.3% en DTM) que aporta PUFA que escapan de la biohidrogenación ruminal (Dewhurst et al., 2006). De hecho, Lock y Bauman (2004) han

sugerido que hasta un 15% de C18:3 podría escapar de la biohidrogenación ruminal. Además, con una diferencia de un 7% (Fajardo et al., 2015) en el consumo de pasto, las vacas G2 presentaron un 40% más de C18:3n-3 que las vacas G1. Por otra parte, la fracción n-6 en leche fue mayor para las vacas G0 que en las vacas en pastoreo, lo que es consistente con el perfil de AG de la DTM vs la pastura. En resumen, las diferencias observadas en las fracciones n-3 y n-6 en leche fueron claramente reflejadas en la relación n-6/n-3 como ha sido reportado previamente (Petit et al., 2004).

La relación C14:1/C14:0 mostró menor actividad desaturasa en vacas G2 lo que es consistente con la menor síntesis de AG *de novo* de estas vacas comparadas con G0 y G1. La menor síntesis de AG y desaturación en G2 sugieren una glándula mamaria menos activa. Esto sería consistente con la liberación de AG de cadena larga desde el tejido adiposo y/o las cantidades aumentadas de PUFA de la dieta de G2 que reducen la actividad de enzimas lipogénicas específicas (ACC y FAS) en la glándula mamaria (Chilliard et al., 2000)

#### **b) Efecto del cambio a 6 horas de pastoreo luego de DTM en el perfil de ácidos grasos a los 65 DPP**

El perfil de AG en leche de las vacas G0 se modificó con el cambio a una dieta mixta. De hecho, el perfil de AG de las vacas sometidas al cambio fue similar al de las vacas sometidas a 6 h de pastoreo y DPM desde el parto (vacas G1). El incremento en el contenido de los ácidos linolénico [C18:3(n-3)], vaccénico (C18:1 *trans*) y CLA en leche de vacas Post-DTM desde los 45 a 65 DPP es consistente con la inclusión de pastura en la dieta. En realidad, el contenido de estos AG fue similar al de las vacas G1 a los 65 DPP, lo que es consistente con el consumo de DPM y pastura que no fue diferente entre grupos (Fajardo et al., 2015). Estos hallazgos sugieren que el proceso ruminal (y específicamente el de biohidrogenación) así como la actividad metabólica de la glándula mamaria no fue diferente entre los grupos Post-DTM y G1. Aunque Khanal et al. (2008) reportaron que el aumento de CLA demoró 23 días luego de cambiar vacas de DTM a pastoreo, en el presente estudio el contenido de CLA fue el doble (0.35 vs 0.77 g/100g) 2 días luego de mover las vacas a 6 h de pastoreo en una sesión y con DPM. Estos datos son consistentes con Kuzdal-Savoie y Kuzdal (1961) que reportaron un incremento abrupto en el contenido de CLA alcanzando un efecto máximo luego de 5 días del cambio. Los estudios anteriores usaron dietas contrastantes para hacer el cambio (no pastoreo vs 100% pastoreo). En nuestro estudio el incremento considerable de CLA fue logrado con una oferta del 50% y un consumo del 20% de pastura de la MS diaria ofrecida (Fajardo et al., 2015). Entonces, esto puede sugerir que la delta 9 desaturasa en la glándula mamaria respondió activamente a la llegada de su precursor (C18:1 *trans*).

Como se discutió previamente, el contenido de ácido linoleico [C18:2cis(n-6)] disminuyó cuando las vacas comenzaron a pastorear, esto junto con el incremento de C18:3 (n-3), provocó que la relación n-6/n-3 disminuyera en la leche de las vacas Post-DTM sin mostrar diferencia con las vacas G1. Como fue mencionado, los PUFA tienen efecto inhibitorio en la síntesis *de novo*

(Chilliard et al., 2000) y esto fue evidente con el cambio al pastoreo, donde los AG *de novo* en Post-DTM disminuyeron desde los 45 a los 65 DPP, equiparándose al contenido de G1. Un incremento en la cantidad de C18:0 se observó cuando las vacas fueron cambiadas de la DTM a la pastura, incluso siendo mayor que el contenido en las vacas G1 en ese día. Como se ha mencionado, este AG refleja movilización lipídica (Rukkwamsuk et al., 2000), y esto sugiere que las vacas Post-DTM debieron adaptarse a los nuevos requerimientos energéticos debidos al pastoreo y la caminata (Fajardo et al., 2015).

## CONCLUSIONES

Incluir pastura en una oferta de un 50% de MS diaria permite capturar los beneficios de la pastura (relacionado a producir una leche con un perfil de AG más “deseable” para la salud humana) manteniendo un nivel de producción competitivo. Además, vacas que no pastorearon durante los primeros dos meses de lactación, cuando son cambiadas a una dieta mixta (oferta de 50% DTM y 50% pastura) presentan un perfil de AG similar a aquellas vacas que pastorearon desde el parto.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AbuGhazaleh A. A, Schingoethe D. J., Hippen A. R., and . Kalscheur K. F. 2003. Conjugated Linoleic Acid and Vaccenic Acid in Rumen, Plasma, and Milk of Cows Fed Fish Oil and Fats Differing in Saturation of 18 Carbon Fatty Acids. *J. Dairy Sci.* 86:3648–3660
2. AbuGhazaleh A. A. and Holmes L. D. 2007. Diet Supplementation with Fish Oil and Sunflower Oil to Increase Conjugated Linoleic Acid Levels in Milk Fat of Partially Grazing Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 90:2897–2904 doi:10.3168/jds.2006-684
3. Acosta, Y., Karlen, H., Villanueva, N., Mieres, J.M., La Manna, A., 2010. Intensificación: el rol de la alimentación. En: Jornada Técnica de Lechería. Serie Actividades de Difusión No. 610. San José. p 55-62
4. Artegoitia V, Meikle A, Olazábal L, Damián JP, Adrien ML, Mattiauda D, Bermudez J, Torre A, Carriquiry M. 2012. Milk casein and fatty acid fractions in early lactation are affected by nutritional regulation of body condition score at the beginning of the transition period in primiparous and multiparous cows under grazing conditions [pre-print]. *Journal of Animal Physiology Animal Nutrition*
5. Barber M.C., Clegg R.A., Travers M.T., Vernon R.G. 2007. Lipid metabolism in the lactating mammary gland, *Biochim. Biophys. Acta* 1347 (1997) 101–126.
6. Bargo F, Muller LD, Delahoy JE, Cassidy TW. 2002. Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J Dairy Sci.* 2002 Nov; 85(11):2948-63.
7. Bargo F., J.E. Delahoy J.E., Schroeder G.F, Baumgard L.H.:, Muller L.D. 2006. Supplementing total mixed rations with pasture increase the content of conjugated linoleic acid in milk. *Animal Feed Science and Technology* 131 (2006) 226–240
8. Bauman D.E., Mather I.H., Wall R.J., Lock A.L. 2006. Major Advances Associated with the Biosynthesis of Milk. *J. Dairy Sci.* 89:1235–1243.
9. Bauman DE. 2000. Regulation of nutrient partitioning during lactation: homeostasis and homeorhesis revisited. In *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism and Growth, and Reproduction*, ed. PJ Cronje, pp. 311–27. New York: CAB Int.
10. Bauman D.E., Corl B.A., Baumgard, Griinari J.M. 2001. Conjugated linoleic acid (CLA) and the dairy L. H. cow. Pages 221–250 in *Recent Advances in Animal Nutrition*. P. C. Garnsworthy and J. Wiseman, ed. Nottingham University Press, Nottingham, UK.

11. Bauman D.E., Corl B.A., Peterson D.G. The biology of conjugated linoleic acids in ruminants. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, ed. JL Sebedio, WW Christie, RO Adlof, Vol. 2. Champaign, IL: AOCS Press. In press
  
12. Bauman D.E., Davis C.L. 1974. Biosynthesis of milk fat. In *Lactation: A Comprehensive Treatise*, ed. BL Larson, VR Smith, Vol. 2, pp. 31–75. New York: Academic
  
13. Bauman D.E., Griinari J.M. 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci.* 70:15–29
  
14. Bauman D.E., Mather I.H., Wall R.J., Lock A.L. 2006. Major Advances Associated with the Biosynthesis of Milk. *J. Dairy Sci.* 89:1235–1243.
  
15. Buccioni A, Decandia M, Minieri S, Molle G, Cabiddu A. 2012. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Animal Feed Science and Technology* 174 (2012) 1– 25.
  
16. Cajarville, C.; A. Mendoza, A. Santana y J.L. Repetto. 2012. En tiempos de intensificación productiva... ¿Cuánto avanzamos en el conocimiento de los nuevos sistemas de intensificación de la vaca lechera? *Veterinaria* 48, Suppl. 1, 35-39.
  
17. Chilibroste, P., Naya, H., Urioste, J.I. 2002. Evaluación cuantitativa de curvas de lactancia de vacas holando en Uruguay. 3. Implicancias biológicas de las curvas de producción multifásica. *Revista Argentina de Producción Animal*. Vol: 22 – supl. 1, 358-359.
  
18. Chilibroste, P., Soca, P., Mattiauda, D.A., Bentancur, O., Robinson, P.H., 2007. Short term fasting as a tool to design effective grazing strategies for lactating dairy cattle: a review. *Aus. J. Exp. Agr.* 47, 1075 - 1084.
  
19. Chilibroste, P., Soca, P. y Mattiauda, D.A. 2011. Balance entre oferta y demanda de nutrientes en sistemas pastoriles de producción de leche: potencial de intervención al inicio de la lactancia. In: XV Congreso Latinoamericano de Buiatría, XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría. Eds. Centro Médico Veterinario de Paysandú – sociedad Uruguay de Buiatría. Paysandú, Uruguay. 8-10 Junio 2011. Pp. 91-97. ISSN 1688-6674.

20. Chilbroste, P. 2011. IFCN Dairy Report 2011, International Farm Comparisson Network . 2011. Vol: 1, pp. 210, *Edicion: 1. Editorial: IFCN Dairy Reserach Center, Kiel. Co-editor y Co-autor.*
21. Chilbroste, P., Mattiauda, D.A., Bentancur, O., Soca, P., Meikle, A., 2012. Effect of herbage allowance on grazing behavior and productive performance of early lactation primiparous Holstein cows. *Anim.Feed Sci. Technol.* 173, 201–209.
22. Chilbroste P, Soca P, Mattiauda D. 2012a. Estrategias de alimentación en Sistemas de Producción de Leche de base pastoril. En: *Pasturas 2012 : Hacia una ganadería competitiva y sustentable. Balcarce : INTA. pp. 91-100.*
23. 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.
24. Chilliard, Y., A. Ferlay, and M. Doreau. 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. *Livest. Sci.* 70:31–48.
25. Codex alimentarius. 1999. Disponible en <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/vetdrugs/glossary/es>. Fecha de consulta 5/03/2016.
26. Croissant A. E., Washburn S. P., Dean L. L., and Drake M. A. 2007. Chemical Properties and Consumer Perception of Fluid Milk from Conventional and Pasture-Based Production Systems. *J. Dairy Sci.* 90:4942–4953 doi:10.3168/jds.2007-0456
27. Dewhurst, R. J., N. D. Scollan, S. J. Youell, J. K. S. Tweed, and M. Humphreys. 2001. Influence of species, cutting date and cutting interval on the fatty acid composition of grasses. *Grass Forage Sci.* 56:68–74.
28. Dewhurst R.J., K.J. Shingfield , 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 (2006) 168–206

29. Dewhurst, R.J., 2005. Targets for milk fat research: nutrient, nuisance or nutraceutical? *J. Agric. Sci., Camb.* 143, 359–367.
30. Dhiman, T.R., Anand, G.R., Satter, L.D., Pariza, M.W. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *J. Dairy Sci.* 82, 2146–2156.
31. DIEA. 2009. Uruguay; Ministerio de Ganadería Agricultura y pesca. Estadísticas agropecuarias. Montevideo, Uruguay, Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,85,O,S,0,MNU;E:27;5;MNU>; Fecha de consulta 22/06/2013
32. DIEA. 2011. Uruguay; Ministerio de Ganadería Agricultura y pesca. Estadísticas agropecuarias. Montevideo, Uruguay, Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,583,O,S,0,MNU;E:27;7;MNU>; Fecha de consulta: 22/06/2013
33. DIEA. 2012. Uruguay; Ministerio de Ganadería Agricultura y pesca. Estadísticas agropecuarias. Montevideo, Uruguay, Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/Dieaanterior/Anuario2012/DIEA-Anuario-2012web.pdf>; Fecha de consulta: 27/08/2013
34. DIEA. 2015. Uruguay; Ministerio de Ganadería Agricultura y pesca. Estadísticas agropecuarias. Montevideo, Uruguay, Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/page.aspx?2,diea,diea-anuario-2015,O,es,0>. Fecha de consulta: 05/03/2016
35. Dschaak C. M. Noviandi C. T. Eun J.-S. , Fellner V. Young A. J. ZoBell D. R. and Israelsen C. E. 2011. Ruminant fermentation, milk fatty acid profiles, and productive performance of Holstein dairy cows fed 2 different safflower seeds. *J. Dairy Sci.* 94 :5138–5150 doi: 10.3168/jds.2011-4541
36. Edmonson A.J., Lean I.J., Weaver L.D., Farver T., Webster G. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science.* 72:68-78.
37. Ellis, K. A., G. Innocent, D. Grove-White, P. Cripps, W. G. McLean, C. V. Howard, and M. Mihm. 2006. Comparing the fatty acid composition of organic and conventional milk. *J. Dairy Sci.* 89:1938–1950.
38. Fajardo M., Mattiauda D.A., Motta G., Genro T.C., Meikle A., Carriquiry M., Chilbroste P. 2015. Use of mixed rations with different

access time to pastureland on productive responses of early lactation Holstein cows. *Livestock Science* 181 (2015) 51–57

39. Fajardo M, Mattiauda D, Meikle A, Carriquiry M, Gil J, Motta G, Guala G, Ortega G, Pelaez D, Sorhouet P, Souza F, Chilbroste P. 2012. Performance of Holstein dairy cows under different feeding strategies in early lactation *Journal of Dairy Science*, 95(E-Suppl 2): 367.
40. Farrell Jr. H.M., Jimenez-Flores R., Bleck G.T., Brown E.M., Butler J.E., Creamer L.K. 2004. Nomenclature of the proteins of cows' milk—sixth revision. *J. Dairy Sci.* 87:1641–74.
41. Flowers, G., S. A. Ibrahim, and A. A. AbuGhazaleh. 2008. Milk fatty acid composition of grazing dairy cows when supplemented with linseed oil. *J. Dairy Sci.* 91:722–730.
42. Folch J., Lees M., Sloane Stanley G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497-509.
43. Fox P.F., Mcsweney P.L.H. 1998. *Dairy Chemistry and Biochemistry*, Chapman & Hall, London.
44. Gagliostro G., Páez R., and Taverna M. 2003. La composición de la grasa butirosa, una alternativa para diferenciar sistemas pastoriles. *INTA Rafaela. Mercoláctea* 2003. 10 de mayo de 2003.
45. Gagliostro, G.A. 2004. 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
46. Gao Yanxia, Sun Tao, LI Jianguo. 2009. Effect of oilseeds rich in linoleic and linolenic acids on milk production and milk fatty acid composition in dairy cows. *Front. Agric. China* 2009, 3(3): 311–318 DOI 10.1007/s11703-009-0022-1
47. Griinari J.M., Bauman D.E. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. Page 180 in *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. Vol. 1. M. Yurawecz, M. Mossoba, J. Kramer, M. Pariza, and G. Nelson, eds. AOCS Press, Champaign, IL.

48. Harfoot C.G., Hazlewood G.P. 1988. Lipid metabolism in the rumen. In *The Rumen Microbial Ecosystem*, ed. PN Hobson, pp. 285–322. Amsterdam: Elsevier
49. Haydock, K. P., y Shaw, N. H. 1975. The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Animal Production Science*, 15(76), 663-670.
50. INALE.2013.  
([http://www.inale.org/innovaportal/file/144/1/remision\\_a\\_planta.xls](http://www.inale.org/innovaportal/file/144/1/remision_a_planta.xls)).
51. Jenkins T.C., McGuire M.A. 2006. Major Advances in Nutrition: Impact on Milk Composition. *J. Dairy Sci.* 89:1302–1310.
52. Jutzeler van Wijlen R., Colombani P. 2010. Grass-based ruminant production methods and human bioconversion of vaccenic acid with estimations of maximal dietary intake of conjugated linoleic acids. *International Dairy Journal* 20 (2010) 433e448
53. Kay, J.K., Mackle, T.R., Aldist, M.J., Thomson, N.A., Bauman, D.E., 2004. Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. *J. Dairy Sci.* 87, 236–378.
54. Kelly M. L., Kolver E.S., Bauman D.E., Van Amburgh M. E., Muller L. D. 1998. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:1630–1636.
55. Khanal R.C., Dhiman T.R., Boman R.L. 2008. Changes in fatty acid composition of milk from lactating dairy cows during transition to and from pasture. *Livestock Science* 114 (2008) 164–175
56. Kolver, E.S. Y Muller, L.D. 1998. Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal of Dairy Science.* 81 (5), 1403-1411.
57. Kraft, J., M. Collomb, P. Mockel, R. Sieber, and G. Jahreis. 2003. Differences in CLA isomer distribution of cow's milk lipids. *Lipids* 38:657–664.
58. Kristensen, T., Oudshoorn, F., Munksgaard, L., Soegaard, K., 2007. Effect of time at pasture combined with restricted indoor feeding on production and behavior in dairy cows. *Animal* 1, 439 - 448.

59. Kuzdal-Savoie, S., Kuzdal, 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 acides gras polyinsaturés. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 1, 47–69.
60. Lawless, F., J. J. Murphy, D. Harrington, R. Devery, and C. Stanton. 1998. Elevation of conjugated cis-9, trans-11-octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation. *J. Dairy Sci.* 81:3259–3267.
61. Lock A. L., Bauman D.E. 2004. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids* 39:1197–1206.
62. Looor J.J., Soriano F.D., Lin X., Herbein J.H., Polan C.E. 2003. Grazing allowance after the morning or afternoon milking for lactating cows fed a total mixed ration (TMR) enhances trans11-18:1 and cis9,trans11-18:2 (rumenic acid) in milk fat to different extents
63. Looor J. J., A. Ferlay, A. Ollier, M. Doreau, and Y. Chilliard. 2005. Relationship Among Trans and Conjugated Fatty Acids and Bovine Milk Fat Yield Due to Dietary Concentrate and Linseed Oil. *J. Dairy Sci.* 88:726–740
64. Mackle, T. R., J. K. Kay, M. J. Auldist, A. K. H. McGibbon, B. A. Philpott, L. H. Baumgard, and D. E. Bauman. 2003. Effects of abomasal infusion of conjugated linoleic acid on milk concentration and yield from pasture-fed dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:644–652.
65. Mattiauda, D.A., Tamminga, S., Gibb, M.J., Soca, P., Bentancur, O., Chilbroste, P., 2013. Restricting access time at pasture and time of grazing allocation for Holstein dairy cows: ingestive behaviour, dry matter intake and milk production. *Livest. Sci.* 152, 53-62.
66. Meikle, A., Adrien L, Mattiauda D, Chilbroste P. 2012. Sward condition on metabolic endocrinology during early postpartum in primiparous grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95(E-Suppl 2): 289.
67. Mendoza A, Cajarville C., Repetto J.L. (2016). Short communication: Intake, milk production, and milk fatty acid profile of dairy cows fed diets combining fresh forage with a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 99:1938–1944

68. Millar A., Wrischer M., Kunst L., 1998. Accumulation of Very-Long-Chain Fatty Acids in Membrane Glycerolipids Is Associated with Dramatic Alterations in Plant Morphology. *The Plant Cell*, Vol. 11, 1889–1902
69. Moate P.J., Chalupa W., Boston R.C., Lean I.J. 2007. Milk fatty acids. I. Variation in the concentration of individual fatty acids in bovine milk. *J. Dairy Sci.*, vol. 90, p. 4730-4739.
70. Moore C.E., Hafliger H.C., Mendivil O.B., Sanders S.R., Bauman D.E., Baumgard L. H. 2004. Increasing amounts of conjugated linoleic acid (CLA) progressively reduce milk fat synthesis immediately postpartum. *J. Dairy Sci.* 87:1886–1895.
71. Moore C. E., Kay J. K., VanBaale M. J., Collier R. J., Baumgard L. H. 2005. Effect of conjugated linoleic acid on heatstressed Brown Swiss and Holstein cattle. *J. Dairy Sci.* 88:1732–1740.
72. Morales-Almaraz E., Soldado A., Gonzalez A, Martinez-Fernandez A., Dominguez-Vara A, de la Roza-Delgado B., Vicente F. 2010. Improving the fatty acid profile of dairy cow milk by combining grazing with feeding of total mixed ration. *Journal of Dairy Research* (2010) 77 225–230.
73. Mossoba M.M., Yurawecz M.P., Roach J.A.G., McDonald R.E., Flickinger B.D., Perkins E.G. 1996. Analysis of Cyclic Fatty Acid Monomer 2-Alkenyl-4,4-dimethylloxazoline Derivatives by Gas Chromatography–Matrix Isolation–Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* 44, 3193–3196.
74. Murphy, J. J., J. F. Connolly, and G. P. McNeill. 1995. Effects on cow performance and milk fat composition of feeding full fat soyabeans and rapeseeds to dairy cows at pasture. *Livest. Sci.* 44:13–25.
75. Naya, H., Urioste, J.I. y Chilibroste, P. 2002. Evaluación cuantitativa de curvas de lactancia de vacas holando en Uruguay. 2. Ajuste de un modelo bifásico. *Revista Argentina de Producción Animal*. Vol: 22 – supl. 1, 357-358.
76. NRC (National Research Council). 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. Seventh revised edition. National Academic Press, Washington DC.
77. OPYPA. 2012. Edición N° 20. Oficina de Programación y Política Agropecuaria OPYPA-MGAP. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,7,667,O,S,0,MNU;E;66;9;MNU>

78. Palmquist D.L., Beaulieu A.D., Barbano D. M. 1993. ADSA foundation symposium: Milk fat synthesis and modification. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci.* 76:1753.
79. Pariza M.W., Park Y., Cook M.E. 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog Lipid Res.* 40 (4): 283–98.
80. Peterson D.G., Kelsey J.A. Bauman D.E. 2002. Analysis of variation in cis9, trans11 conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 85 2164–2172
81. Petit, H.V., Germiquet C. Lebel D. 2004. Effect of feeding whole, unprocessed sunflower seeds and flaxseed on milk production, milk composition, and prostaglandin secretion in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 87: 3889-3898.
82. Peyraud, J.L., Comeron, E.A., Wade, M.H., Lemaire, G., 1996. The effect of daily herbage allowance, herbage mass and animal factors upon herbage intake by grazing dairy cows. *Ann. Zootech.* 45, 201–217
83. Rukkwamsuk T., Geelen M. J. H., Druip, T. A. M., Wensing, T. 2000. Interrelation of fatty acid composition in adipose tissue, serum, and liver of dairy cows during the development of fatty liver postpartum. *Journal of Dairy Science* 83, 52–59.
84. Schroeder G. F., J. E. Delahoy, I. Vidaurreta, F. Bargo, G. A. Gagliostro, and L. D. Muller. 2003. Milk Fatty Acid Composition of Cows Fed a Total Mixed Ration or Pasture Plus Concentrates Replacing Corn With Fat. *J. Dairy Sci.* 86:3237–3248
85. Schroeder G.F., G.A. Gagliostro, F. Bargo, J.E. Delahoy, L.D. Muller. 2004. Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. *Livestock Production Science* 86 (2004) 1 –18
86. Stanton C., Lawless F., Kjellmer G., Harrington D., Devery R., Connolly J. F., Murphy J. 1997. Dietary influences on bovine milk cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid content. *J. Food Sci.* 62:1083–1086.
87. Stoop, W. M.; Bovenhuis, H.; Heck, J. M. L.; van Arendonk, J. A. M. 2009. Effect of lactation stage and energy status on milk fat composition of Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science* 92, 1469–1478.

88. The Global Dairy. 2015. Disponible en: <http://theglobaldairy.com/noticias/farmers-earning-premiums-for-milk-from-grass-fed-night-milked-cows-43238>.
89. Vibart R.E., Vivek F., Burns J.C., Huntington G.B., Green J.T. Jr. 2008. Performance of lactating dairy cows fed varying levels of total mixed ration and pasture. *Journal of Dairy Research*. 75:471-480.
90. Wales, W.J., Marett, L.C., Greenwood, J.S., Wright, M.M., Thornhill, J.B., Jacobs, J.L., Ho, C.K.M., Auld, M.J. 2013. Use of partial mixed rations in pasture-based dairying in temperate regions of Australia. *Anim. Prod. Sci.* 53, 1167-1178.
91. Walstra P., Wouters, J.T.M. & Geurts, T.J. 2006. *Dairy Science and Technology*. Taylor y Francis. New York. 782pp .
92. White SL, Benson GA, Washburn SP, Greer JT Jr. 2002. Milk production and economic measures in confinement or pasture systems using seasonally calved holstein and jersey cows. *Journal of Dairy Science*. 85(1):95-104.
93. Wu, Z., O. A. Ohajuruka, and D. L. Palmquist. 1991. Ruminal synthesis, biohydrogenation, and digestibility of fatty acids by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74:3025–3034.
94. Zunong Maimaijiang TuerhongTuerxun, Okamoto M., Hongo A., Hanada M. 2009. Effects of a potato pulp silage supplement on the composition of milk fatty acids when fed to grazing dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 152 (2009) 81–91