

**Título de la tesis.**

“Influencia de los diferentes sistemas de alimentación utilizados en las ganaderías de vacuno de Asturias sobre la producción y la composición de la leche”

Carme Santiago Andión

Fecha de entrega: 12 de Junio, 2015.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer este trabajo a todos los que han contribuido en él, en especial a Adela Martínez y Fernando Vicente por el apoyo recibido en cada etapa. Siendo sus consejos y oportunidades fundamentales, no solo para llevar a cabo el estudio, sino para orientarme en la búsqueda de nuevas oportunidades.

A Consuelo González, María Antonia Cueto y Sagrario Modroño, por permitir que las ideas y los proyectos se materialicen en trabajos de investigación, con su labor diaria.

A Victor Granda y M. Amelia González porque sus aportaciones han sido fundamentales para este estudio.

A Alfonso Carballal por ayudarme en cada dificultad, aportando orden y soluciones en todo momento. A Ana Soldado, Luis Rollo y Begoña de la Roza, por estar siempre dispuestos a prestar ayuda.

A los compañeros que me han servido de inspiración Jose D. Jiménez-Calderón, Silvia Baizán, Carlos Gómez y Maroua Dachraoui por sus consejos y buenos momentos compartidos.

A Jose, Tito, Cris e Isa por su amabilidad y su gran ayuda. Y al resto del equipo que conforma el área de Nutrición, Pastos y Forrajes del SERIDA.

A Armando Occón, coordinador del Máster, por la ayuda brindada durante todo este tiempo.

Al SERIDA como institución por haberme acogido con sus medios y equipos.

A los ganaderos de vacuno de leche que han participado en este estudio, por la hospitalidad recibida a pesar de la incesante crisis del sector.

En agradecimiento a mi familia y a mis allegados, gracias por aportarme confianza en todo aquello que me propongo.

Gracias a todos.

Los trabajos que componen esta memoria han sido financiados por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) a través del proyecto RTA2012-00065-C05-01, cofinanciado con fondos FEDER

## ÍNDICE GENERAL

Capítulo	Página
<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>II</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>X</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>XII</b>
<b>RÉSUMÉ.....</b>	<b>XIV</b>
<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>IX</b>
<b>ÍNDICE.....</b>	<b>IV</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>VI</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>VII</b>
1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	7
2.1. Sistemas de producción de vacuno de leche.....	9
2.2. Composición de la leche de vaca.....	12
2.2.1. Componentes mayoritarios.....	13
2.2.1.1. Lactosa.....	13
2.2.1.2. Grasa.....	14
2.2.1.3. Proteína.....	17
2.2.1.4. Nitrógeno no proteico.....	18
2.2.2. Componentes minoritarios.....	19
2.2.2.1. Vitaminas.....	19
2.2.2.2. Enzimas.....	20
2.2.2.3. Minerales.....	20
2.3. Importancia de los ácidos grasos de la leche de vaca para la salud humana.....	20
2.4. Metabolismo de los ácidos grasos.....	22
2.5. Factores que influyen en el perfil de ácidos grasos de la leche.....	26
2.5.1. Factores intrínsecos.....	26
2.5.2. Factores extrínsecos.....	27
2.5.2.1. Época del año.....	27
2.5.2.2. Variaciones regionales.....	27

2.5.2.3. Sistemas de producción.....	28
2.5.2.4. Estrategia de alimentación.....	28
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	37
3.1. Selección de explotaciones.....	39
3.2. Encuestas de alimentación y toma de muestras.....	41
3.3. Análisis de laboratorio.....	42
3.3.1. Alimentos.....	42
3.3.2. Leche.....	43
3.4. Análisis estadístico.....	45
4. RESULTADOS.....	47
4.1. Características de los sistemas productivos.....	49
4.2. Características de los sistemas de alimentación.....	50
4.3. Descripción de los sistemas de alimentación.....	53
4.4. Análisis de la composición de la leche.....	55
5. DISCUSIÓN.....	69
6. CONCLUSIONES.....	79
7. BIBLIOGRAFÍA.....	83
8. ANEXO.....	95
8.1. Cuestionario sobre alimentación. ....	97

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
Tabla 2.1. Composición en ácidos grasos de los lípidos de la leche bovina.....	15
Tabla 2.2 Acciones atribuidas a los CLA y los ω-3 en la salud humana.....	21
Tabla 2.3. Resumen de los efectos sobre el perfil de ácidos grasos de las diferentes estrategias de alimentación. Factores que proporcionan sustratos lipídicos para la biohidrogenación en el rumen.....	34
Tabla 2.4. Resumen de los efectos sobre el perfil de ácidos grasos de las diferentes estrategias de alimentación. Factores que alteran el medioambiente ruminal.....	35
Tabla 2.5. Resumen de los efectos sobre el perfil de ácidos grasos de las diferentes estrategias de alimentación. Factores que combinan sustratos lipídicos y modificación de la microbiota ruminal.....	36
Tabla 3.1. Características de las explotaciones estudiadas.....	41
Tabla 4.1. Proporción de concentrado y forraje (propio o comprado) en cada sistema productivo.....	49
Tabla 4.2. Clasificación de los sistemas de alimentación después de un análisis de conglomerados teniendo en cuenta los ingredientes que conformaban la ración.....	53
Tabla 4.4 Composición química de la leche según los sistemas de alimentación.....	56
Tabla 4.5. Composición química de la leche según la estación.....	56
Tabla 4.6. Composición química de la leche según la zona.....	56
Tabla 4.7. Perfil de ácidos grasos de la leche según los sistemas de alimentación.....	60
Tabla 4.8. Perfil de ácidos grasos según la estación.....	61
Tabla 4.9. Perfil de ácidos grasos de la leche según la zona geográfica.....	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 2.1. Estacionalidad de la producción de praderas en Asturias.....	11
Figura 2.2. Origen de los principales componentes de la leche.....	13
Figura 2.3 Rutas de biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados (AGI): linoleico, linolénico y oleico.....	24
Figura 2.4. Vías de síntesis de ácido vaccénico y ruménico en vacuno de leche.....	26
Figura 3.1. Mapa de los concejos dónde se realizó el muestreo. Entre paréntesis el número de ganaderías estudiadas en cada concejo.....	40
Figura 4.1. Producción de leche (L / vaca / día) y cantidad de concentrado por litro de leche en función de los sistemas productivos.....	50
Figura 4.2. Dendrograma resultante de análisis de cluster de ingredientes que componían la ración. Se señala la línea de corte para realizar la clasificación en 5 cluster: I, II, III, IV y V y en 7 cluster: I, II, III, IVa, IVb, Va, Vb.....	51
Figura 4.3. Porcentaje de forraje y concentrado aportados en la ración, en función del sistema de alimentación.....	54
Figura 4.4. Producción de leche (L / vaca / día) (a) y concentrado consumido por litro de leche producida (g / L) (b) en función de cada sistema de alimentación.....	55
Figura 4.5. Análisis de componentes principales para la composición química de la leche.....	57
Figura 4.6. Gráfica de elipses de confianza en función del sistema de alimentación tras el análisis de componentes principales de la composición química de la leche.....	58
Figura 4.7. Análisis de componentes principales del total de ácidos grasos analizados y cuantificados.....	63
Figura 4.8. Gráfica de elipses de confianza en función del sistema de alimentación tras el análisis de componentes principales del perfil de ácidos grasos de la leche.....	64
Figura 4.9. Análisis de componentes principales de ácidos grasos mayoritarios.....	65
Figura 4.9. Gráfica de elipses de confianza en función del sistema de alimentación tras el análisis de componentes principales de los ácidos grasos mayoritarios de la leche.....	66
Figura 4.10. Análisis de componentes principales de los ácidos grasos minoritario.....	67

Figura 4.11. Gráfica de elipses de confianza en función del sistema de alimentación tras el análisis de componentes principales de los ácidos grasos minoritarios de la leche....68

## **ABREVIATURAS**

- AG: ácidos grasos  
AGI: ácidos grasos insaturados  
AGMI: ácidos grasos monoinsaturados  
AGPI: ácidos grasos poliinsaturados  
AGS: ácidos grasos saturados  
AGV: ácidos grasos volátiles  
ANOVA: análisis de la varianza  
BH: biohidrogenación  
CLA: conjugados del ácido linoleico  
DHA: docosahexaenoico  
ENL: Energía neta lactación  
EPA: eicosapentainoico  
FND: fibra neutro detergente  
FTIR: infrarrojo con transformada de Fourier  
GC-MS: cromatografía de gases-masas  
LDL: lipoproteína de baja densidad  
MS: materia seca  
NIR: Espectroscopía en el infrarrojo cercano  
NNP: nitrógeno no proteico  
PAC: Política Agrícola Común  
PB: proteína bruta  
PCA: análisis de componentes principales  
<sub>p</sub>TMR: ración completa mezclada parcial  
SAU: Superficie Agraria Útil  
TMR: ración completa mezclada  
 $\omega$ -3: omega 3  
 $\omega$ -6: omega 6

## RESUMEN

Los modelos de producción de leche de Asturias se han fundamentado tradicionalmente en el cultivo forrajero principal en la explotación, con especial atención a la superficie que se destina al maíz forrajero, debido a la importancia que tiene este cultivo para la producción leche. Esto es debido a que en los últimos años el ensilado de maíz, se ha impuesto como el ingrediente básico de la alimentación del vacuno de leche. Sin embargo, debido a la orografía de Asturias, con una pendiente media superior al 20%, hay zonas donde el cultivo de maíz forrajero como base de la alimentación del vacuno de leche, no es posible.

A su vez, la propia dinámica anual de producción de forrajes y la habitual rotación de cultivo de maíz con raigrás italiano, hace que la composición de la dieta de las vacas varíe a lo largo del año, por lo que no se puede asimilar la superficie cultivada de un forraje con el tipo de alimentación de los rebaños. Por esta razón, el presente trabajo tiene como objetivo identificar los diferentes sistemas de alimentación utilizados en las ganaderías de vacuno de leche en Asturias a lo largo de un año. Además pretende analizar la influencia de los sistemas de alimentación identificados, sobre la producción y la composición de la leche, en especial sobre su perfil de ácidos grasos.

Para llevar a cabo este trabajo se seleccionaron 16 ganaderías según una clasificación previa realizada en base a la utilización o no de pastoreo y a la superficie dedicada al cultivo de maíz, con cuatro ganaderías por sistema. Las ganaderías fueron visitadas trimestralmente, una vez por estación desde el verano de 2014 a la primavera de 2015. En las visitas se encuestó a los ganaderos acerca de la producción y la alimentación ofertada a las vacas en lactación, tomando muestras en los alimentos ofertados y de la leche del tanque para su análisis.

Los ingredientes de las raciones fueron analizados mediante análisis de cluster para establecer las raciones más frecuentes y definir el tipo de explotación según la alimentación. Los resultados de la composición de la leche, fueron analizados mediante análisis de la varianza considerando como factores principales: el sistema de alimentación, la estación y la zona geográfica. Así mismo, se realizó un análisis de componentes principales a fin de evaluar la posibilidad de poder diferenciar el tipo de alimentación según la composición de la leche.

Se identificaron cinco sistemas de alimentación en función de la composición de ingredientes: I) Pastoreo, II) Ensilado de maíz, III) Ensilado de hierba, IV) Forraje seco y V) Alto concentrado.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que la compra de alimentos está ligada al porcentaje de forraje verde y de ensilado de maíz en la ración, siendo los sistemas I y II los menos dependientes de la compra de alimentos.

El sistema ensilado de maíz (II) fue el de mayor producción de leche y mayor eficiencia en el uso del concentrado, con una composición de la leche diferente al resto de sistemas. Éste, presentó las mayores proporciones de proteína, lactosa, extracto seco magro y urea en la leche. Sin embargo, su perfil de ácidos grasos fue menos insaturado, con mayores proporciones de ácidos grasos saturados y menores de ácidos esteárico, vaccénico, oleico y  $\alpha$ -linolénico. El perfil de ácidos grasos de los sistemas identificados como pastoreo (I), ensilado de hierba (III) y forraje seco (IV) presentaron mayor grado de insaturación con las mayores concentraciones de los ácidos ruménico, vaccénico, oleico,  $\alpha$ -linolénico y esteárico.

## SUMMARY

The traditional models of dairy cow systems in Asturias are based on the main forage crop culture, especially on maize due to its importance for dairy milk production. In the last decades, maize silage is the most used in the ration of dairy cow. However, the Asturian orography, characterized by an average slope upper to 20%, there are areas where the maize crop can not be cultivated.

Furthermore the composition of cows diet varies throughout the year, because of the annual dynamic change of forage production and maize italian ryegrass rotation. So, the crop area can not always be associated with the ration. For this reason, the aim of this study was to indentify the different feeding systems in dairy farms in Asturias. Also, the present study investigated the influence of theses feeding systems in milk production and composition, especially in fatty acid profiles.

There were selected 16 dairy farms which were divided into four systems depending on the grazing situation and the percentage of area destined to maize culture. A survey was compiled four times in these farms for each season, since summer 2014 to spring 2015. The farmers were interviewed about production and feed offered to the cows in lactation, and feed and milk were sampled.

The components of the ration were analyzed by cluster analysis to establish feeding systems. The results of milk composition were analyzed by ANOVA considering as main factors: feeding system, season and region. Additionally, these results were analyzed by principal components analysis, with the purpose to difference the feeding systems by milk composition.

There were identified five feeding systems based in the ration composition: I) Grazing, II) Maize silage, III) Grass silage, IV) Dry forage, and V) High concentrate.

The results obtained show that the purchase of feedstuffs is associated with the percentage of fresh forage and maize silage. The purchase of forage off-farm were the lowest in system I and II.

The maize silage system (II) was the highest in milk production and it spent less concentrate by kg of milk. Also, this system showed the highest proportions of protein, lactose, solids-non-fat in milk and urea. Besides, their fatty acid profiles were less

unsaturated, with high proportions of fatty acids saturated and less amounts of stearic, vaccenic, oleic and  $\alpha$ -linolenic acids. Fatty acid profiles of the systems identified as Grazing (I), Silage grass (III) and Dry forage (IV) were the highest proportion of unsaturated acids, such as, rumenic, vaccenic , oleic,  $\alpha$ -linolenic and stearic acids.

## RÉSUMÉ

Les modèles de production de lait à Asturies, ont été basés traditionnellement sur les cultures fourragères principales dans l'exploitation, avec une attention particulière à la surface destinée pour le maïs fourrage à cause de l'importance de cette culture pour la production du lait. Ceci est en raison que ces dernières années l'ensilage de maïs, est devenu l'ingrédient de base de l'alimentation des bovins laitiers. Cependant, en raison de la orographie de la région, avec une pente moyenne supérieure à 20%, il y a des zones où la culture de maïs fourrager comme aliment de base pour vaches laitières n'est pas possible. À son tour, la dynamique annuelle de la production des fourrages et la rotation habituelle du maïs avec du ray-grass italien, rendent la composition de l'alimentation des vaches varier tout au long de l'année, de sorte qu'il ne se peut pas assimiler la surface fourragère cultivée avec le type d'alimentation des troupeaux. Pour cela, ce travail a pour objectif d'identifier les différents systèmes de l'alimentation utilisés dans les élevages bovins laitiers à Asturies sur une année. En plus de vouloir étudier l'influence des systèmes de l'alimentation identifiés sur la production et la composition du lait, en particulier sur son profil d'acides gras.

Pour réaliser ce travail, 16 exploitations ont été sélectionnées en fonction de la superficie prévue pour la culture demaïs, et selon la base de l'utilisation ou non de pâturage. Les fermes ont été visitées trimestriellement, une fois par saison depuis l'été 2014 au printemps 2015. Les éleveurs ont été interrogés sur la production et les aliments constituant la ration des vaches en lactation. À chaque visite, des échantillons des aliments et de lait ont été prélevés pour des analyses. Les ingrédients des rations ont été analysés en utilisant une analyse de cluster pour établir les rations les plus fréquentes et définir l'exploitation selon le type de l'alimentation. Les résultats de la composition du lait ont été analysés en utilisant une analyse de variance, considérant comme facteurs principaux: le système d'alimentation, la saison et la zone géographique. En outre, une analyse des principaux composants a été réalisée à fin d'évaluer la possibilité de pouvoir différencier le type de l'alimentation en fonction de la composition du lait.

Cinq groupes ont été identifiés en fonction de la composition des ingrédients I) pâturage, II) ensilage de maïs, III) ensilage d'herbe, IV) fourrage sec V) élevé en concentré.

Les résultats montrent que l'achat des aliments est lié au pourcentage de fourrage vert et de l'ensilage de maïs dans la ration. Les systèmes I et II étant les moins dépendants des achats des aliments. La production du lait la plus élevée avec une composition différente en comparaison avec les autres systèmes, et la plus grande efficacité dans l'utilisation du concentré ont été obtenues avec le système (II). Ceci a présenté des proportions élevées en protéines, lactose, extraits sec faible en gras et de l'urée dans le lait. Cependant, son profil en acides gras a été moins insaturé, avec des proportions élevées en acides gras saturés et faible en acide stéarique, acide vaccénique, acide oléique et  $\alpha$ -linolénique. Le profil des acides gras des autres systèmes identifiés comme des systèmes pâturage (I), ensilage d'herbe (III) fourrage sec (IV) ont été montrés un degré plus élevé d'instauration avec des concentrations élevées en acide ruménique, vaccénique, oléique,  $\alpha$ -linolénique et stéarique.



## **1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO**



## **1. Introducción y objetivo**

En los últimos años la producción mundial de leche de vaca ha experimentado un gran incremento (FAOSTAT, 2015). Se espera que esta tendencia se mantenga conforme vaya aumentando la renta *per capita*, sobre todo en ciertos países cuyo crecimiento económico está en desarrollo (Gerosa y Skoet, 2012). Europa es el mayor productor mundial de leche (33,1% del total), seguido por América (29,1%) y Asia (27,9%). Los países con mayor producción de leche fresca son, en orden decreciente, Estados Unidos, India, China y Brasil. Si bien los mayores exportadores son: Nueva Zelanda, Estados Unidos, Alemania, Francia, Australia e Irlanda, mientras que los mayores importadores de leche son China, Italia, Rusia, México, Argelia e Indonesia. La producción de leche en España es de 6 millones de toneladas, lo que representa el 4,25% de la producción de leche en Europa (MAGRAMA, 2015). En los países de la Unión Europea, a través de la Política Agrícola Común (PAC), los excedentes de producción de leche estaban contingentados por la cuota láctea hasta abril de 2015 cuando la nueva PAC (2014-2020) eliminó el sistema de cuotas. Asturias es la tercera comunidad española que aporta más toneladas a la producción de leche (MAGRAMA, 2015), con una cuota láctea de 610.043 toneladas, que representa un 10,2 % del total de la producción de leche en España para el período 2014-2015. La situación del sector lechero en esta región es similar a la tendencia mundial, donde la evolución de la producción de litros de leche por animal tiene una tendencia a aumentar, compensando una disminución en general de la cabaña ganadera (SADEI 2014 y March et al., 2014). Esta disminución en la cabaña ganadera viene acompañada de una reducción en el censo de explotaciones, incrementándose el número de animales por explotación.

En los últimos años se ha llevado a cabo un proceso de intensificación de la producción de leche, de forma que se ha percibido un incremento en el número de animales por hectárea, se ha mejorado el potencial genético del ganado y se ha incrementado la utilización de concentrados en la ración ofrecida a los animales (Álvarez et al., 2008). Este proceso de intensificación de las explotaciones no ha ido acompañado de un aumento de la base territorial de las mismas. De hecho, desde que España entró en la Unión Europea en 1986, la cuota láctea se reparte cada vez entre menos explotaciones y se vincula a una menor superficie geográfica (SADEI, 2010). La reestructuración del

sector lácteo permitió a los ganaderos durante años utilizar el territorio disponible para otras producciones, especialmente para vacas de carne (Álvarez et al., 2008).

En la actualidad las explotaciones lecheras se encuentran en una delicada situación económica derivada especialmente de la bajada generalizada de los precios de la leche percibidos por el productor (Arango y Fernández, 2011), del endeudamiento como consecuencia de los procesos de modernización asumidos en sus explotaciones y de la necesidad de comprar cuota láctea para poder crecer y hacerlas viables.

El coste de alimentación en las explotaciones de vacuno lechero puede suponer alrededor del 60% de los gastos totales y más del 80% de los costes variables, si bien los incrementos de producción por vaca amortiguan el constante aumento de los gastos realizados en este concepto (Mugica, 1995). El clima oceánico característico en esta zona, con temperaturas suaves y lluvias distribuidas uniformemente a lo largo del año, favorece la producción de los pastos y forrajes utilizados en alimentación de vacuno de leche. Además las vacas lecheras prefieren ambientes con temperaturas entre 5-25°C, conocida como la zona termoneutra (Kadzere et al., 2001). Debido a ello, las condiciones climáticas de esta región son óptimas para la producción de leche. En consecuencia, el manejo de la alimentación característico en zonas templado húmedas, está basado en forrajes conservados como ensilado y en concentrados (Morales Almaraz et al., 2011). La descripción de los sistemas de producción de leche de Asturias según Arango y Fernández, (2011) se fundamenta en el tipo de superficie forrajera que utiliza la explotación y, dentro de esta, la proporción de maíz forrajero existente en relación a la superficie total. De esta manera la evaluación económica de las explotaciones de leche de vaca en Asturias muestra una gran dependencia de la Superficie Agraria Útil (SAU) destinada al cultivo de maíz forrajero (Servicios Técnicos de Central Lechera Asturiana, 2012). Ahora bien, debido a la orografía de la zona, con una pendiente media superior al 20% (MAPA, 2003), hay áreas donde el cultivo del maíz no es posible. Además, esta clasificación de sistemas de producción según la superficie no tiene en cuenta las variaciones en la alimentación a lo largo del año, ya que, no es habitual que las ganaderías mantenga a lo largo de todo el año una misma ración

El componente más variable de la leche es la grasa que juega un papel crítico en los atributos sensoriales de los productos lácteos (Bauman y Griinari, 2001). La composición de la grasa de la leche es en su mayoría ácidos grasos saturados (AGS, 70-

75%), monoinsaturados (AGMI, 20-25%) y pequeñas cantidades de poliinsaturados (AGPI, 5%) (Dewhurst et al., 2006). Debido a su alta proporción de AGS, el consumo de leche se ha asociado con el incremento total de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de colesterol (Dewhurst et al., 2006; Elgersma et al., 2006). Ahora bien, la leche y los productos lácteos son una importante fuente de nutrientes en la dieta humana. La grasa de la leche recibe gran atención por parte del consumidor, que demanda productos más saludables, y por parte de los científicos, que han determinado que es una gran fuente de componentes beneficiosos para la salud (Park, 2009). Estos componentes son denominados componentes bioactivos y son aquellos que tienen una función fisiológica y bioquímica específica en el organismo cuando son consumidos. La grasa de la leche contiene numerosos componentes, destacan en ellos el ácido esteárico (C18:0), el ácido rúmenico (*C18:2 cis-9, trans-11*), el ácido vaccénico (*C18:1 trans-11*), el ácido linoleico (*C18:2 cis-9, trans-12*), el ácido  $\alpha$ -linolénico (*C18:3 cis-9, cis-12, cis-15*), las vitaminas A y D, y la esfingomielina. En estos ácidos grasos se ha detectado, a través de estudios *in vitro* con líneas celulares humanas y de estudios con modelos animales, que poseen propiedades antimutagénicas (Bauman et al., 2006). Se encuentran pues, entre los objetivos para la industria láctea y la investigación, aumentar la proporción de los ácidos grasos beneficiosos para la salud, reduciendo la proporción de ácidos grasos saturados y aumentando la cantidad de ácidos grasos insaturados. La composición de la grasa de la leche depende en mayor medida del genotipo de la vaca y del estado de lactación, pero el método más adecuado para influir en ella es el manejo de la nutrición (Shingfield et al., 2008). Se ha visto que la presencia de ciertos ácidos grasos puede ser incrementada en la leche a través de la alimentación, especialmente en animales en pastoreo (Park, 2009; Morales-Almaraz et al., 2010). También se ha detectado variación en el perfil de ácidos grasos de la leche en sistemas donde el pasto es suplementado con concentrado (Schroeder et al., 2003) o en sistemas donde el forraje fresco se ofrece en pesebre, incluso cuando este es conservado (Elgersma et al., 2004; Nielsen et al., 2006).

Por todo lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo identificar los sistemas de alimentación de vacuno de leche en Asturias. Una vez definidos los mismos se pretende evaluar la influencia de los diferentes sistemas en la producción y composición de la leche.



## **2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**



## **2. Revisión bibliográfica**

### **2.1. Sistemas de producción de vacuno de leche**

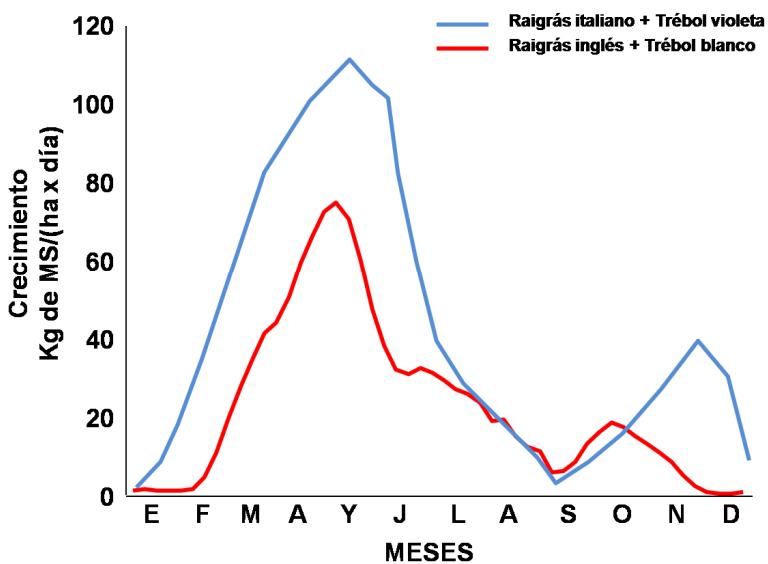
El objetivo de la producción de leche es mejorar la eficacia del proceso de producción, abaratando su coste, obteniendo una leche de calidad y en cantidad óptima. Tradicionalmente se consideraban tres tipos de sistemas productivos: intensivo extensivo y semi-intensivo.

En la producción intensiva las vacas están en estabulación permanente (fija o libre) y la alimentación está basada en el aporte de altas cantidades de concentrados, como fuentes de energía y proteína. También se incluyen subproductos, correctores y una mínima cantidad de forraje para asegurar el mantenimiento de la función ruminal. La ración está formulada con el objetivo de maximizar la producción de leche por animal. Son animales de gran tamaño, con pesos superiores a los 700 kg y con producciones superiores a 10.000 L por lactación. En estos sistemas se acorta el ciclo productivo, hace a los animales más homogéneos y más manejables de cara a aplicar tratamientos distintos, facilita el manejo para realizar alimentación por lotes de animales, lo que permite adaptar la dieta al nivel productivo de cada lote. Sin embargo, eleva el coste por animal debido al alto grado de especialización, la gran inversión en genética animal, al mayor coste de los alimentos por animal y la mayor dependencia de la compra de alimentos del exterior de la explotación, ya que compran todo el alimento. También tienen un elevado coste en instalaciones y utillaje. Los animales están más expuestos al estrés derivando en una menor resistencia y probabilidad de padecer ciertas enfermedades. El manejo de los desechos en este tipo de explotaciones genera problemas medioambientales por el exceso en la producción de purines, malos olores, lixiviados y residuos medicamentosos. Este tipo de producción se da típicamente en zonas cerealistas y/o zonas con escasa disponibilidad de terreno, como ocurre en Corn Belt de EEUU, cuenca mediterránea, etc.

En los sistemas de producción extensivos, las vacas son alimentadas con pasto, con mínimo aporte de concentrados pudiendo tener o no acceso a algún tipo de estabulación. El pasto es un alimento nutritivo de bajo coste, por ello y junto con la menor compra de concentrados, abarata el coste de la dieta (Soder y Rotz, 2001). El objetivo de la producción de leche en sistemas de pastoreo eficientes es aumentar la producción de

leche por hectárea (Clark y Kanneganti, 1998). Las vacas utilizadas son de pequeño tamaño (400-500 kg) y con producciones entorno a los 4000 L por lactación. Estos sistemas son más dependientes de las condiciones climáticas, están sometidos a la variabilidad estacional que provoca variaciones en el valor nutritivo del pasto, pudiendo verse afectados algunos parámetros productivos en determinadas épocas. En general, la productividad por animal es menos homogénea. La fertilidad puede ser menor debido a la posible falta de alimentos en determinadas épocas y se suele acompañar de una bajada en la calidad de la leche. Son sistemas que tienen poca inversión y mano de obra. Suelen resultar en producciones diversificadas. Se producen mejoras en el ambiente y salud de los animales, por ejemplo se ha asociado la laminitis con la ausencia de pastoreo (Hernandez-Mendo et al., 2007). Nueva Zelanda basa su producción de leche en este sistema.

Los sistemas semi-intensivos, se basan en la asociación de los dos sistemas anteriores. Se suplementa el pasto con determinada cantidad de concentrados y otros forrajes en base a los distintos objetivos perseguidos que pueden variar desde incrementar la producción de leche por animal y/o por hectárea, a mejorar la calidad de la leche en grasa y/o proteína o mejorar la condición corporal para no afectar a la reproducción. La producción de leche se encuentra entorno a los 7000-8000 L por lactación, y son animales con peso aproximado de 600 kg. En estos sistemas se presta atención a los momentos donde hay menor disponibilidad de praderas como se muestra en la figura 2.1, para hacer frente a la variabilidad que se produce en los sistemas extensivos, para lo cual se realiza un mayor uso de forrajes conservados. De esta forma se mejora el control sobre la alimentación del animal. La tecnología empleada en el ordeño puede ser la misma que en sistemas intensivos y contribuye a mejorar la calidad de la leche respecto a los sistemas extensivos. Por contra, se requiere mayor inversión en instalaciones y utillaje, así como mano de obra más cualificada. La producción lechera en el arco atlántico suele estar basada en este sistema.



(Fuente: tomado de Martínez-Fernández et al., 2014)

Figura 2.1. Estacionalidad de la producción de praderas en Asturias.

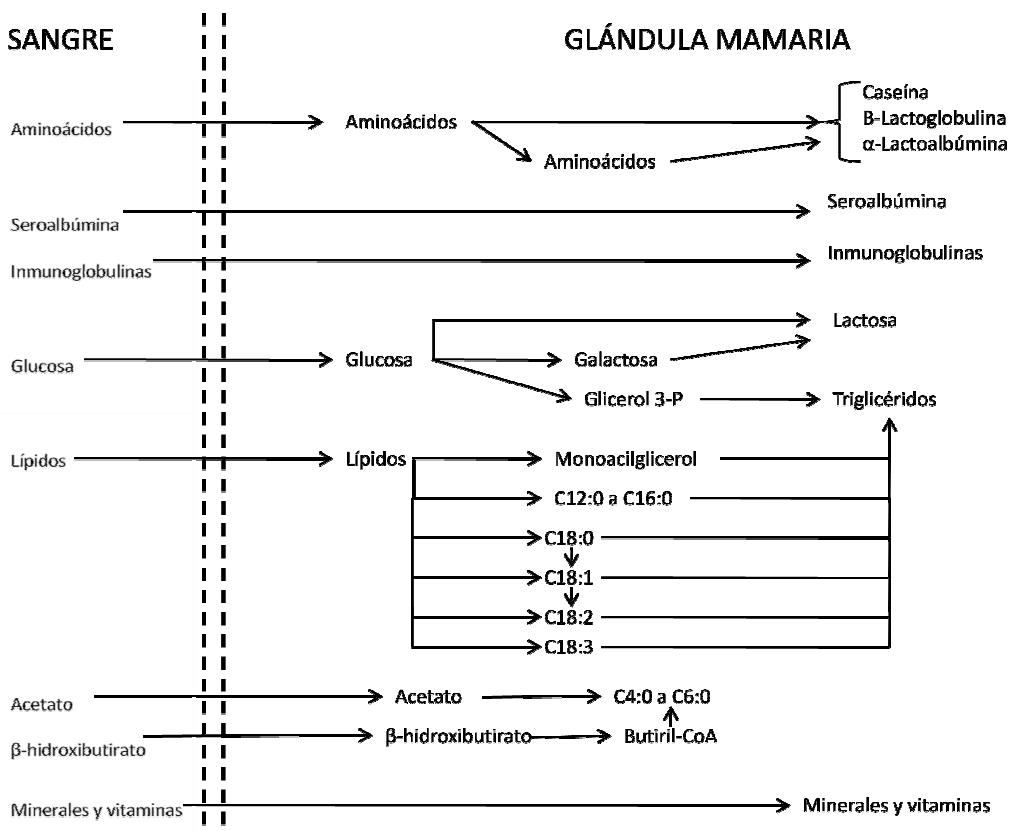
La elección del sistema de producción depende de las condiciones de la explotación tales como la situación, climatología, genética, disponibilidad de recursos, etc. En relación a esto, el clima oceánico favorece la producción de los pastos y forrajes utilizados en alimentación de vacuno de leche. Los sistemas de alimentación en base a hierba no permiten alcanzar el potencial genético actual de la Frisona-Holstein para producir leche y es imprescindible la suplementación. Complementar el pasto con raciones completas mezcladas (TMR) o ración unifeed, constituye una estrategia viable para vacas de alta producción en pastoreo (Bargo et al., 2002). No son raciones estrictamente completas porque tienen en cuenta la ingestión de hierba en el pasto, por lo que es más correcto denominarlas raciones completas mezcladas parciales (pTMR) o semi-unifeed. Los pastos utilizados por el ganado lechero están comúnmente basados en especies de clima templado, y son generalmente de alta calidad, jóvenes y frondosos con 18 a 24% MS, 18 a 25% PB, 40-55% FND y 1,53-1,7 Mcal/kg MS de ENL (Clark y Kanneganti, 1998). Muchos productores tienen el equipamiento y la experiencia en sistemas de alimentación que usan TMR preparados en carros mezcladores, que son usados en las épocas en las no hay disponibilidad de pastos. Una de las principales ventajas de este sistema es el aporte de una ración uniforme que permite la sincronización de aportes en la dieta a lo largo del año, con mejor ajuste de la ingestión

de materia seca y menores problemas ruminales debido a la correcta proporción de forraje y concentrado. Se consigue aumentar la producción de leche y la cantidad de grasa y proteína en la leche. Con esta estrategia, que combina pasto con pTMR se pueden reducir los costes de alimentación, provocando mejoras en el bienestar animal (de la Roza et al., 2014).

La extensión de superficie dedicada a cultivo de forrajes en Asturias es del 42,5% de la superficie agraria total que dispone para cultivos (MAGRAMA, 2013). Los cultivos forrajeros y praderas mayoritarios son en orden decreciente: maíz forrajero, praderas y raigrás (34,5%, 32,5% y 31,0% respectivamente) (SADEI 2007). Ahora bien, el relieve accidentado de la región, con una pendiente media superior al 20% (MAPA 2003), limita al litoral y zonas llanas el cultivo del maíz, por lo que la producción de leche se sitúa en las zonas orográficas más favorables llegando a desaparecer en zonas de alta montaña (SADEI 2010). En estas condiciones el tipo de explotación predominante en Asturias tiene una cuota entre 75.000-200.000 litros de leche anuales, que supone el 34% del total de las explotaciones con cuota asignada para el período 2014-2015 (MAGRAMA, 2015), y contribuyen al volumen total de cuota para la región en un 20%. Las explotaciones que más contribuyen al volumen total de leche, son las de más de 300.000 kg, que representan el 25% del total de explotaciones presentes y contribuyen con el 57% al volumen total de la producción de leche en Asturias.

## **2.2. Composición de la leche de vaca**

La leche es una emulsión de grasa, micelas de caseína, células somáticas y bacterias en una solución acuosa con distintos elementos (lactosa, minerales y proteínas solubles). El componente mayoritario de la leche es agua (87,3%), seguido de lactosa (4,6%), grasa (3,9%), proteína (3,2%) y cenizas (0,7%) (Jennes, 1986). Los componentes mayoritarios de la leche se sintetizan en la glándula mamaria, a partir de precursores circulantes en sangre que se absorben selectivamente. Así mismo, la glándula ejerce un filtrado selectivo sobre los componentes minoritarios que no son elaborados en este lugar (ciertas proteínas, minerales y vitaminas) (McDonald et al., 2011). En la figura 2.2 se muestra de forma esquemática el diverso origen de los principales componentes de la leche.



(Fuente: Adaptada de McDonald et al., 2011.)

Figura 2.2 Origen de los principales componentes de la leche.

### 2.2.1. Componentes mayoritarios

#### 2.2.1.1. Lactosa

La lactosa es el principal hidrato de carbono de la leche y se sintetiza en el aparato de Golgi de las células secretoras de leche, mayoritariamente a partir de la D-glucosa sanguínea y de la D-galactosa (Johnson, 1978). Los precursores minoritarios de la lactosa son: galactolípidos, cerebrósidos y galactoproteínas. La concentración de lactosa en la leche no es muy variable y se sitúa entre el 4,8 y el 5,2% (Johnson, 1978). Su concentración responde al equilibrio iónico, en función de la concentración de sodio y potasio en las células secretoras de leche (acinos), de forma que existe una relación inversa entre la cantidad de los iones sodio y potasio en los acinos y la concentración de

lactosa en la leche. Esta concentración puede verse modificada en caso de mamitis por el deterioro de la integridad epitelial que consecuentemente produce la pérdida del gradiente iónico. Se han visto algunos efectos de la alimentación sobre la concentración de lactosa, aunque no están claramente demostrados, como un aumento de lactosa en leche cuando se aportan dietas más energéticas (Argamentería et al., 2006).

### **2.2.1.2. Grasa**

La grasa es el principal componente energético de la leche y está valorada por sus propiedades físicas, sus características para la industria alimentaria y por sus cualidades organolépticas tanto en la leche como en productos lácteos (Bauman et al., 2006). Se encuentra en la leche formando distintos tipos de agregados, la mayoría de los cuales tienen conformación globular con una envoltura de naturaleza lipoproteica, el resto son fragmentos de membrana de los glóbulos de grasa.

La grasa láctea es una mezcla que contiene en su mayoría (95%) triacilgliceroles (Renner, 1982), con una gran variedad de ácidos grasos saturados e insaturados. Una parte minoritaria son fosfolípidos, glucolípidos, colesterol y trazas de ácidos grasos libres. Los ácidos grasos (AG) de la leche son en su mayoría ácidos grasos saturados (AGS, 70-75%), monoinsaturados (AGMI, 20-25%) y pequeñas cantidades de poliinsaturados (AGPI, 5%) (Dewhurst et al., 2006). El ácido graso saturado predominante en la grasa de la leche es el ácido palmítico (C16:0), en tanto que entre los insaturados predomina el ácido oleico (C18:1 *cis*-9) con pequeñas cantidades de linoleico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12,) y α-linolénico (C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15). En la tabla 2.1 se muestran los porcentajes medios de cada ácido graso sobre el total de la grasa en leche bovina.

Tabla 2.1. Composición en ácidos grasos de los lípidos de la leche bovina.

Ácido graso	Peso (%)	Ácido graso	Peso (%)
C4:0	3,3	C16:0 <sup>a</sup>	0,20
C6:0	2,3	C16:0	34,5
C8:0	1,3	C16:1	1,4
C10:0	2,7	C17:0	0,44
C10:1	0,16	C18:0	9,8
C12:0	2,9	C18:1	20,8
C12:1	0,02	C18:2	1,9
C14:0 <sup>a</sup>	0,04	C18:2 <i>cis-9, trans-11</i>	0,6
C14:0	10,0	C18:2 <i>trans-10, cis-12</i>	0,01
C14:1	0,85	C18:3	0,25
C15:0	0,81	C20	0,13

<sup>a</sup> Cadena ramificada.

(Fuente: adaptada de McDonald et al., 2011)

Se han detectado más de 400 ácidos grasos distintos en la leche de vaca, incluyendo los de número impar de átomos de carbono y los que tienen cadenas ramificadas (Park, 2009; McDonald et al., 2011). El origen de los lípidos de la grasa de la leche es muy diverso, así algunos AG provienen de los productos digestivos, como son de los ácidos grasos volátiles de la fermentación ruminal (acetato,  $\beta$ -hidroxibutirato), y otros provienen de su absorción directa a través de la dieta. Otros provienen de la movilización de las reservas corporales del animal, tras haber estado almacenados en el organismo y movilizados especialmente al comienzo de la lactación. Así pues, se pueden diferenciar principalmente dos orígenes de los AG de la leche: i) los triglicéridos circulantes en sangre en forma de lipoproteínas procedentes de la grasa de la ración, o ii) de las reservas corporales, cuando el animal se encuentra en balance energético negativo. En general se calcula que la mitad de la grasa de la leche procede de los lípidos de la sangre y pasan sin ser modificados directamente a la leche. La otra mitad son producidos a través de la síntesis *de novo* de ácidos grasos que acontece en el citosol de las células secretoras de la ubre.

El tejido mamario tiene una gran capacidad de esterificación y síntesis de AG. Se considera que el 50% de los AG de la leche procede de la síntesis endógena a partir de acetato (40%) y  $\beta$ -hidroxibutirato (10%). Así pues, el precursor de AG más abundante que llega a la ubre es el acetato, que se convierte a manonil coenzima-A para entrar en el complejo sintetasa, dando lugar a los ácidos C8:0 a C16:0. También se sintetizan a partir de acetato los ácidos C4:0 y C6:0. No obstante puede tomarse de la sangre D-3-hidroxibutirato y utilizarse como fuente de butiril-coenzima A que a continuación entra en la ruta del citosol. Se estima que los AG de cadena media (C8:0 a C14:0) y aproximadamente la mitad del palmítico son derivados de la síntesis *de novo*. Los ácidos grasos de C8:0 a C12:0 rompen prematuramente esta ruta para ser formados, siendo una propiedad inherente al sistema sintetasa. Los ácidos grasos de cadena impar y ramificada se forman a partir de propionato por la ruta del manolil coenzima-A a través del sistema sintetasa. Los ácidos grasos C18:1 y C16:1 se desaturan en la ubre. La síntesis de triacilgliceroles requiere de una molécula de glicerol-3-fosfato obtenida a partir de la glucolisis y de ácidos grasos libres que se encuentran en la ubre para ser esterificados. La enzima acetil coenzima-A carboxilasa algunos autores la consideran limitante por ser responsable de la formación de manolil coenzima-A (Molenaar et al., 2003). La enzima  $\Delta^9$ -desaturasa introduce un doble enlace *cis-9* en los ácidos mirísticos (C14:0), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) y vacénico (C18:1, *trans-11*) dando lugar al miristoleico, palmitoleico, oleico y ruménico respectivamente (C18:2 *cis-9, trans-11*) (Griinari et al., 2000; McDonald et al., 2011).

La mitad del ácido palmítico que no es sintetizado por la anterior vía descrita, y los AG con más de 16 carbonos son derivados de la circulación sanguínea y pueden provenir de la dieta o de las reservas corporales (Bauman y Griinari, 2001). Los AG de la leche que provienen de las reservas corporales del animal normalmente contribuyen en menos del 10 % y se incrementan en proporción directa del grado de déficit de energía cuando están en balance negativo, siendo fundamental la contribución de los AG de la dieta y de productos digestivos a los AG de la leche.

La grasa de la leche es el componente más variable y está influenciada por factores ambientales y fisiológicos. Así pues, su concentración varía con la raza, la edad y el estado de lactación del animal; pero se considera que la **nutrición** es el factor predominante que afecta a la concentración de grasa en la leche (Bauman et al., 2006).

Se han inducido reducciones en la grasa de la leche por suplementación de las vacas con aceites de pescado y aceites vegetales, también con dietas con alta cantidad de concentrados y bajas en fibra o dietas bajas en fibra efectiva. En los rumiantes, los lípidos de la dieta son alterados por el metabolismo bacteriano del rumen donde el principal proceso que se produce es la biohidrogenación de los AGPI (Bauman y Griani, 2001), existe pues una gran diferencia entre los lípidos ingeridos por el animal y aquellos que son incorporados en su leche.

### **2.2.1.3. Proteína**

Se estima que entorno al 95% del nitrógeno total de la leche está en forma de proteína, el 5% restante se encuentra en forma de urea, creatina, glucosalina, amoníaco, etc. Estos últimos pasan directamente de la sangre a la leche. Se sintetizan 7 tipos de proteínas mayoritarias en la glándula mamaria:  $\alpha_{S1}$ ,  $\alpha_{S2}$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$  y  $\gamma$ -caseínas,  $\beta$ -lactoalbúminas y las  $\alpha$ -lactoalbúminas (Mephan, 1982; Park, 2009). Las proteínas minoritarias son las procedentes del plasma (plasminas y plasmógenos) y los fosfolípidos, péptidos y enzimas procedentes de distintos procesos metabólicos (McDonald et al., 2011).

En la glándula mamaria se produce una gran interconversión de aminoácidos antes de la síntesis de la proteína láctea, siendo la mayor parte de ellos absorbidos de la circulación sanguínea (McDonald et al., 2011). Los principales aminoácidos limitantes para la producción de leche son la lisina y la metionina (Schwab et al., 1992). Otras reacciones como las de glucosilación o fosforilación de proteínas, intervienen para formar la totalidad de la proteína de la leche.

Las caseínas ( $\alpha_{S1}$ ,  $\alpha_{S2}$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$  y  $\gamma$ -caseínas) forman complejos coloidales formando micelas. Se organizan de forma que las sales cálcicas y magnésicas de las fosfoproteínas y los grupos fosfato y citrato disponen hacia el interior de la micela los grupos hidrofílicos. Mientras en la cara externa de las micelas se colocan los grupos hidrofóbicos que dependiendo del tipo de caseína pueden unirse o no a iones de calcio (Slattery y Evard, 1973). La  $\kappa$ -caseína no se puede unir al calcio, así pues las micelas de mayor tamaño tienen menor cantidad de  $\kappa$ -caseína (Schmidt, 1982). El calcio establece puentes o enlaces eléctricos con magnesio, fosfato o el citrato para unirse a otras caseínas (las  $\alpha_{S1}$ ,  $\alpha_{S2}$  y  $\beta$ -caseínas) generando así micelas de mayor tamaño. La distribución del tamaño de micelas varía entre individuos y en las diferentes fases de

lactación, pudiendo ser modificadas en estados de desnutrición. La principal función de las caseínas es nutricional.

Las proteínas del suero se encuentran solubles en el suero tras la precipitación de la caseína (Aschanffenburg, 1968) y a diferencia de esta no poseen en sus cadenas aminoácidos fosforilados. Pueden ser clasificadas según su origen en 1) Sintetizadas en la glándula mamaria a partir de aminoácidos del plasma ( $\beta$ -lactoalbúminas,  $\alpha$ -lactoalbúminas, lactoferrina y varias enzimas); 2) Procedentes del plasma sin ser modificadas (albumina sérica y transferrina); 3) Proteínas de origen mixto (inmunoglobulinas). La  $\beta$ -lactoalbúmina es la predominante en el suero de la leche (53%), además de ser rica en aminoácidos esenciales, participa en los procesos de transporte celular y la fosforilación de las caseínas. La  $\alpha$ -lactoalbúmina es la segunda en proporción de las proteínas séricas (5%). Guarda relación con la proporción de lactosa dado que esta proteína forma parte del complejo lactosa-sintetasa. Las inmunoglobulinas, son glucoproteínas con actividad inmunitaria que se generan en grandes cantidades en el calostro reduciéndose drásticamente en la leche (Mehra et al., 2006).

Las proteínas menores se encuentran normalmente por debajo del 1% en leche, entre ellas se encuentran moléculas como la albúmina sérica o pequeñas cadenas de polipéptidos. Se ha visto que algunas de estas proteínas poseen efectos beneficiosos para la salud, como es el caso de la lactoferrina relacionada con funciones tales como antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena, e inmunoreguladora. (Wakabayashi et al., 2006; Park, 2009).

#### **2.2.1.4. Nitrógeno no proteico**

El componente mayoritario del nitrógeno no proteico (NNP) es la urea y tiene una concentración media entre 120-180 mg/ L, aunque con grandes variaciones en función de la producción animal (raza, estado lactación, número lactación, estación, etc.) (Vicente, 2002). El resto de componentes del NNP son aminoácidos libres (como glutamato y la glicina) además de otros componentes que proceden del metabolismo de la glándula mamaria. Los componentes del NNP pasan a través de difusión pasiva entre el epitelio de los conductos lácteos a la secreción láctea. La concentración de NNP en leche depende en mayor medida de la concentración de urea en plasma, siendo la urea

un desecho del catabolismo proteico que se elimina por orina y leche. La concentración de urea en leche es dependiente de la óptima sincronización entre los aportes de proteína y energía en la dieta. Cuando el aporte de nitrógeno degradable excede a las necesidades relativas para el crecimiento microbiano con respecto a la energía, el exceso es absorbido por la pared ruminal y se transforma en urea cuando llega al hígado. Así, sus valores en leche aumentan en dietas con exceso de proteína o con déficit de energía. (Vicente, 2002). El catabolismo de la arginina en la glándula mamaria contribuye en menor medida a la cantidad de urea en la leche. Existen otros factores relacionados con el contenido de urea en leche como el estado de lactación, la raza y la edad del animal.

Otras moléculas que contribuyen a la fracción minoritaria del NNP son la creatina, el ácido hipúrico, el ácido orótico, los nucleótidos y los nucleósidos. Son moléculas derivadas de procesos de renovación de tejidos y procesos celulares presentes en las distintas partes del organismo. Algunos son excretados en su mayoría en los túbulos renales pero tienen permeabilidad para su excreción en leche por los conductos y canalículos de la glándula mamaria, como son la creatina (deriva del metabolismo del tejido muscular) y el ácido hipúrico (formado en el rumen a partir de ácido fenilacético y la glicina). El ácido orótico es un metabolito intermedio del metabolismo de las bases pirimidínicas. Los nucleótidos y nucleósidos son muy abundantes en células secretoras como los acinos de la glándula mamaria (Rawn, 1989).

### **2.2.2. Componentes minoritarios**

#### **2.2.2.1 Vitaminas**

Las vitaminas pasan directamente de la circulación sanguínea a la secreción láctea, no se sintetizan en la glándula mamaria. Las vitaminas liposolubles (A, D, E y K) se asocian a las gotas de grasa y las vitaminas hidrosolubles (complejo B y vitamina C) a la fase acuosa. La concentración de vitaminas liposolubles dependen de la concentración de estas en la dieta de la vaca, a excepción de la vitamina K y las vitaminas hidrosolubles cuyas concentraciones dependen de su síntesis por la flora ruminal.

#### **2.2.2.2. Enzimas**

La leche contiene numerosas sustancias con actividad enzimática y han sido descritas en el suero de la leche. Pueden tener distinta procedencia como de microorganismos, del sistema inmune, o pueden haber sido secretas en la glándula mamaria. Afectan a la conservación de la leche y a las propiedades físicas de la misma.

#### **2.2.2.3. Minerales**

Los minerales representan una pequeña fracción de los sólidos de la leche. Se pueden clasificar en mayoritarios como el calcio, el fósforo, el sodio, el magnesio y el cloro. Los elementos traza son unos veinticinco elementos como el aluminio, estaño, boro, arsénico, silicio, flúor, bromo, yodo, entre otros. La digestibilidad del calcio y el fósforo en la leche es alta porque se encuentra asociada a otros componentes como las caseínas. El sodio, el magnesio y el cloruro se encuentran en solución. Los elementos traza que contiene la leche están asociados a sus aportes en la dieta, y a veces por contaminación atmosférica.

### **2.3. Importancia de los ácidos grasos de la leche de vaca para la salud humana**

La nutrición tiene un papel muy importante en el desarrollo de enfermedades crónicas tales como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes y la obesidad (Shingfield et al., 2008). La prevención de este tipo de enfermedades a través de la alimentación supone un ahorro económico importante en el sistema sanitario. El consumo de ácidos grasos saturados (AGS) y ácidos grasos *trans* están relacionados con el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares. En particular se considera que el consumo de AGS aumenta las concentraciones en plasma de colesterol y lipoproteínas de baja densidad (LDL), estos tienen efectos aterogénicos atribuídos al ácido láurico (C12:0), el ácido mirístico (C14:0) y el ácido palmítico (C16:0). También se conoce que el alto consumo de AGS está relacionado con una menor sensibilidad a la insulina, factor de riesgo del síndrome metabólico (Shingfield et al., 2008). Así pues, existe una mala reputación de la grasa de origen animal en alimentos tales como la leche, por asumir que tiene un alto contenido en grasa perjudicial para la salud, lo que ha dado lugar a un mercado de productos con reducciones importantes en los contenidos en grasa. Esta valoración ignora los atributos positivos que tiene el consumo de leche desde el punto de salud humana. La grasa de la leche y productos lácteos contribuyen de

forma importante al consumo de AG y vitaminas en la dieta, además juega un papel crítico en los atributos sensoriales de estos productos (Chen et al., 2004; Dewhurst et al., 2006). Tan solo un 40% de los AGS de la leche están considerados dentro de la categoría poco saludables (Elgersma et al., 2006). La leche y los productos lácteos en una dieta equilibrada, proporcionan efectos beneficiosos para la salud, respecto a la prevención de la osteoporosis, cáncer, aterosclerosis y enfermedades degenerativas. Numerosos minerales, proteínas, péptidos y lípidos de la leche tienen propiedades con potencial de mejorar la salud a largo plazo (Dewhurst et al., 2006; Korhonen y Philanto, 2006; Shingfield et al., 2008; Park, 2009). Se ha visto que los AGI de la leche tienen efecto hipocolesteromiante, en especial el oleico y el linoleico (Grundy, 1994). Se han relacionado algunos ácidos grasos ramificados, así como el ácido butírico y los esfingolípidos, con propiedades anticarcinógenas en modelos animales (Shingfield et al., 2008). Así mismo los conjugados del ácido linoleico (CLA), y los AG omega-3 ( $\omega$ -3) tienen numerosos efectos positivos (Álvarez Nogal et al., 2004) que se recogen en la tabla 2.2.

Tabla 2.2 Acciones atribuidas a los CLA y los  $\omega$ -3 en la salud humana.

CLA
Acción anticancerígena: inhibición del crecimiento tumoral
Acción antiaterogénica: protección contra ateroesclerosis
Acción antilipogénica: limitación de la acumulación de grasas de reserva (efecto antibesidad)
Acción antidiabética: normalización de la tolerancia a la glucosa
Acción inmunomoduladora: mejora la respuesta inmunitaria
Acción mineralizadora del esqueleto
Ácidos $\omega$ -3
Acción protectora frente a ciertos tumores comunes (mama y colon)
Acción reguladora de los niveles plasmáticos de colesterol: prevención de las enfermedades cardiovasculares
Propiedades antiinflamatorias

(Fuente: adaptado de Álvarez Nogal, 2004)

Entre los AG del grupo CLA, se encuentra de forma importante en leche el ácido rúmenico (C18:2 *cis*-9, *trans*-11), al que se le vincula explícitamente el efecto anticarcinógeno (Park, 2009). El C18:2 *trans*-10, *cis*-12 se le relaciona con la acción

antilipogénica, aunque se encuentra en muy baja concentración en leche. Ambos son el resultado de la actividad metabólica de la flora ruminal sobre los lípidos ingeridos por los animales a través de la ración. Se considera la leche y los productos de rumiantes la mayor fuente de CLA en la dieta humana (Park, 2009). El ácido vaccénico (C18:1 *trans-11*) es el principal AG *trans* de la grasa de la leche y existen evidencias de sus efectos positivos en modelos animales (Lock et al., 2004), aunque existen estudios que sugieren que poseen efectos negativos (Clifton et al., 2004).

Dentro de los AGPI existen dos grandes familias, los  $\omega$ -3 y los omega-6 ( $\omega$ -6). Los  $\omega$ -3 son aquellos ácidos grasos insaturados (AGI) que presentan el primer doble enlace en el tercer carbono de la cadena carbonada, comenzando a contar desde el carbono metilo. Los  $\omega$ -6 son AGI que poseen el primer doble enlace en la posición 6 de la cadena carbonada contando a partir del carbono metilo. La proporción  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 en la dieta humana es recomendable que se acerque a 4-5/1(OMS, 1997).

Puesto que existe un creciente interés del consumidor por la salud y por las dietas enriquecidas para la prevención de las enfermedades anteriormente mencionadas. Los objetivos para la industria láctea y para la investigación son reducir las proporciones de AGS en la leche, especialmente de los AG de cadena media (C12:0, C14:0 y C16:0), así como aumentar la cantidad de ácido oleico (C18:1 *cis-9*), AGPI  $\omega$ -3 y CLA (C18:2 *cis-9, trans-11*) (Dewhurst et al., 2006).

## **2.4 Metabolismo de los ácidos grasos**

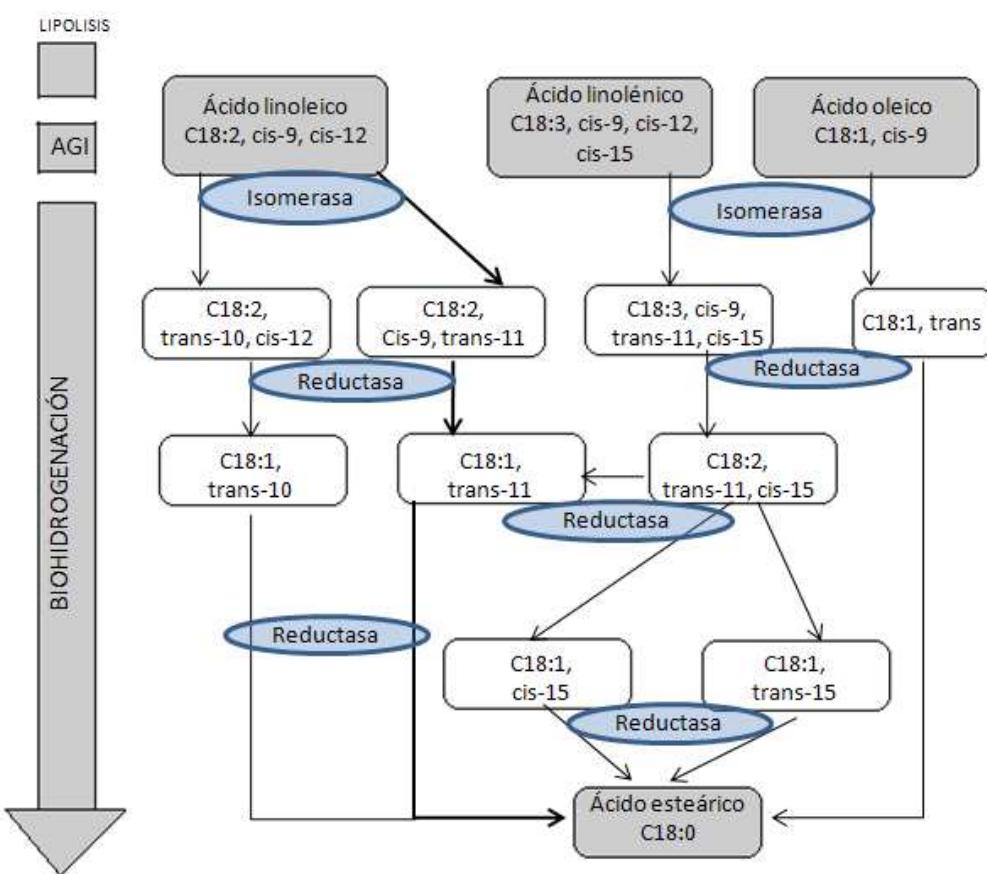
Las dietas convencionales de vacas en lactación raramente contienen más del 3,5% de extracto etéreo y, debido a los alimentos que la componen (forrajes, cereales o semillas), son ricos en ácidos linoleico y linolénico (Palmquist y Jenkins, 1980). La inclusión de AG en proporciones mayores al 6% (sobre materia seca) en la dieta de las vacas, produce una disminución de la síntesis de la grasa en la leche debido a una disminución de la actividad microbiana (Chamberlain y Wilkinson, 1996). En general, los triglicéridos constituyen la mayoría de los lípidos de los cereales (90% de los AG) y del aceite de las semillas (> 95%), comprendiendo del 2-8% y del 18-45% del extracto etéreo respectivamente. El contenido de AG de los forrajes es menor del 50% del extracto etéreo, siendo los galactoglicéridos los lípidos predominantes (McDonald et al., 2011). En el forraje una parte importante son los lípidos no saponificables (ceras,

clorofila, cutina, etc.) (Palmquist y Jenkins, 1980). El forraje fresco contiene entre 0,5-0,75% del total de AG en forma de ácido linolénico. Atendiendo a los ensilados más empleados en la alimentación de las vacas lecheras, en el ensilado de maíz predomina el ácido linoleico con un contenido del 1,8 a 1,9 % de la MS, mientras que el ensilado de hierba tienen mayor contenido en linolénico del 0,85% al 0,96% MS (Nielsen et al., 2006).

Entre el 70 y el 90% de los AGI que llegan al rumen son saturados hasta ácido esteárico (C18:0) (Palmquist y Jenkins, 1980). Así pues, cuando la grasa de la dieta llega al rumen da lugar a distintos intermediarios de AG libres y glicerol. El glicerol es utilizado por bacterias como sustrato para producir ácido propiónico que es liberado al rumen junto con otros ácidos grasos volátiles (AGV) y pasivamente se absorbe a través de la pared ruminal. La mayoría de AG libres se saturan en un ambiente reductor por la flora ruminal, por lo que la grasa de los rumiantes es más saturada que en monogástricos (Jenkins et al., 2008).

Los lípidos esterificados de la dieta sufren lipólisis por acción de las enzimas microbianas que hidrolizan los ésteres vinculados en los complejos de los lípidos, liberando los AG (Jenkins, 1993). Según algunos autores los componentes mayoritarios de la grasa en la dieta (triglicéridos, fosfolípidos y galactolípidos) sufren una rápida hidrólisis por efecto de la flora ruminal (Dawson y Haemington, 1974). Sin embargo, algunos autores sugieren que la propia actividad ezimática de la planta contribuye de forma importante a la lipólisis de triglicéridos y galactolípidos (Faruque et al., 1974). Se considera la bacteria *Anavibrio lipolytica* el mayor agente lipolítico en el rumen. Sin embargo, hay otros microorganismos como protozoos y otras bacterias, que pueden estar implicados en los procesos de lipólisis (Hespell y O'Bryan-Shah, 1988).

Los AGI liberados en los procesos de lipólisis tienen un efecto tóxico sobre la membrana de las bacterias ruminantes, por ello el proceso de biohidrogenación es protector para ellas al saturar los AG. La biohidrogenación de los AGI tiene dos etapas, isomerización de los dobles enlaces y reducción del número de dobles enlaces. En la figura 2.3 se muestran las rutas principales de biohidrogenación de los AGI mayoritarios en la dieta.



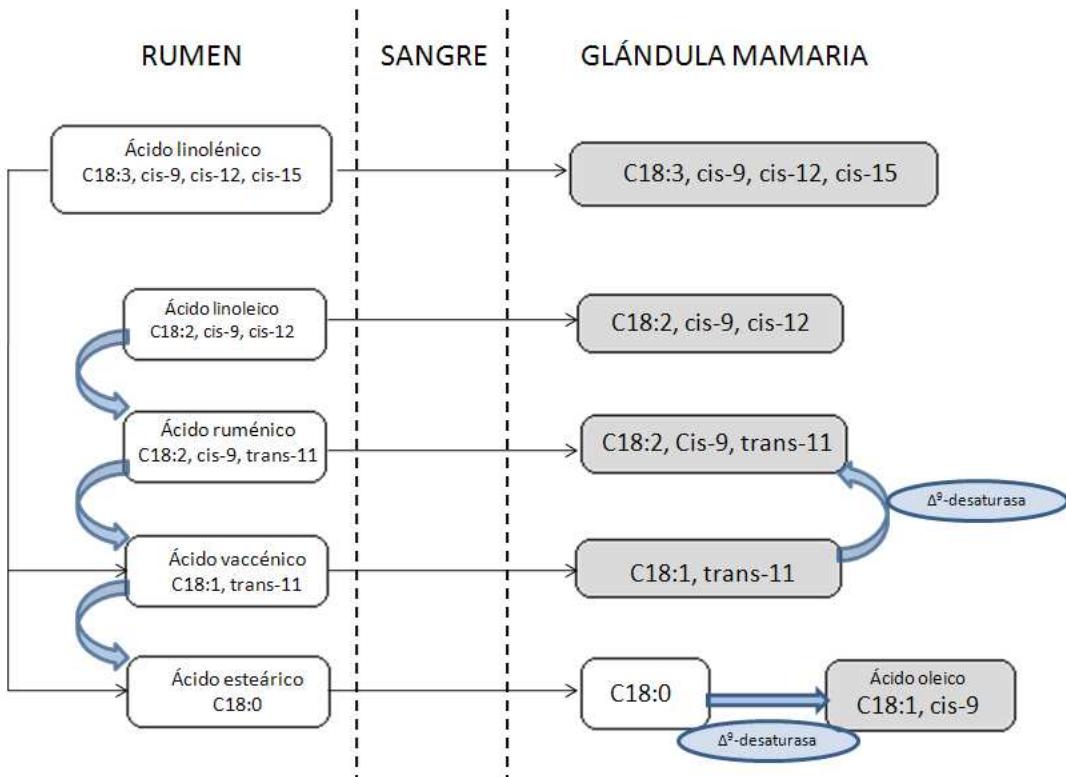
(Fuente: adaptado de Harfoot y Hazlewood, 1988)

Figura 2.3 Rutas de biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados: linoleico, linolénico y oleico.

Los procesos de isomerización y reducción son procesos intracelulares mediados por determinadas isomeraras y reductasas bacterianas. La biohidrogenación (BH) del ácido oleico ( $C_{18}:1$  *cis*-9) genera principalmente esteárico ( $C_{18}:0$ ) de forma directa a través de reductasas bacterianas, aunque una pequeña parte puede sufrir isomerización a  $C_{18}:1$  *trans*. El ácido linoleico ( $C_{18}:2$  *cis*-9, *cis*-11) en el rumen se isomeriza rápidamente y pasa a ácido ruménico ( $C_{18}:2$  *cis*-9, *trans*-11), con un cambio del enlace *cis*-12 a *trans*-11. A su vez el ruménico puede ser reducido (pérdida del enlace *cis*-9) a vaccénico ( $C_{18}:1$  *trans*-11) que puede reducirse a esteárico. Se ha observado que el vaccénico es el isómero *trans* predominante en la BH del ácido linoleico. Partiendo del ácido linolénico, sus dos isómeros ( $C_{18}:1$  *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 o  $\alpha$ -linolénico y  $C_{18}:3$  *cis*-6,

*cis*-9, *cis*-12 o  $\gamma$ -linolénico) son isomerizados en el doble enlace *cis*-12 a *trans*-11 y luego reducidos (perdiendo el doble enlace *cis*-9) a C18:2 *trans*-11, *cis*-15 y vaccénico (C18:1 *trans*-11). Se suceden lentamente reducciones a C18:1 *cis*-15 o C18:1 *trans*-15 que finalmente pueden reducirse a esteárico. Se ha identificado a la bacteria *Butyrivibrio fibrosolvens* como principal especie biohidrogenadora (Bell y Kennelly, 2003) pero también pueden intervenir otras bacterias. Se ha visto que algunos protozoos también juegan un papel importante en la BH (Jenkins et al., 2008).

La BH afecta a una gran proporción de AGI, aunque puede no ser completa, lo que significa que hay metabolitos intermedios que abandonan el rumen y llegan al intestino delgado donde son absorbidos. En la circulación sanguínea pueden pasar directamente a la leche como es el caso del ácido linoleico y el linolénico. El ácido ruménico y el vaccénico son producidos en el rumen (a partir de linoleico o de linolénico por reacciones de isomerización y reducción) y luego pueden ser incorporados directamente a la grasa de la leche a través de la circulación sanguínea. La concentración de ácido ruménico en leche está correlacionada con la presencia de ácido vaccénico. La esteril CoA Desaturasa ( $\Delta^9$ -desaturasa) introduce en el ácido vaccénico un doble enlace *cis* para dar ruménico en el citosol de las células secretoras de la leche. La mayor parte (75%) de ruménico en la leche proviene de la desaturación del vaccénico en la ubre (Chilliard et al., 2001). Así mismo, el ácido esteárico puede dar lugar a oleico en la glándula mamaria a través de la misma enzima. En la figura 2.4 se muestran las principales vías de síntesis de ácido vaccénico y ruménico en la glándula mamaria.



(Fuente: adaptada de Chilliard et al., 2001.)

Figura 2.4. Vías de síntesis de ácido vaccénico y ruménico en vacuno de leche.

## 2.5. Factores que influyen en el perfil de ácidos grasos de la leche

### 2.5.1. Factores intrínsecos

La raza o genotipo afectan a la composición de la grasa de la leche (Chilliard y Ferlay, 2004). Así pues, se ha descrito una mayor concentración de CLA en Holstein que en Jersey o Normanda (Kelsey et al., 2003), por el contrario en otros estudios no se encuentran estas diferencias (Lawless et al., 1999) cuando comparan cuatro razas distintas: la Holstein Irlandesa, la Holstein Holandesa, la Montbeliarde y la Normanda.

La variación individual es importante, puesto que se ha visto que animales de la misma raza con dietas iguales, muestran efectos muy distintos sobre la composición de la grasa de su leche (Peterson et al., 2002; Kelsey et al., 2003). Así pues, algunos animales poseen un potencial de respuesta mayor a un tratamiento dietético y otros una respuesta

menor o nula. La edad es un factor que puede estar relacionado con el contenido en AGPI en la leche, siendo éste menor a mayor edad de la vaca (Lal y Narayanan, 1984).

### **2.5.2. Factores extrínsecos**

#### **2.5.2.1. Época del año**

La época del año afecta a la composición de la leche. En un estudio realizado en Dinamarca, se ha visto que la estación puede afectar al perfil de AG de la leche produciéndose incrementos durante el verano de ácido esteárico y de oleico con disminuciones de C14:0 y C16:0 (Larsen et al., 2014). El contenido en ácido ruménico y vaccénico aumenta a finales de verano. Ello concuerda con estudios previos realizados en los Países Bajos donde se ha visto que el ácido ruménico disminuye durante los meses de febrero y marzo y aumenta en agosto y septiembre (Kahnal, 2004). Si bien, en Nueva Zelanda (Auldist et al., 1998) y Reino Unido (Lock y Garnsworthy, 2003) se ha visto que la menor concentración de CLA se encontró en invierno. En otro estudio llevado a cabo en Reino Unido se observó que se incrementan las concentraciones de AGPI, AGMI, en especial del ácido vaccénico, y disminuyen las concentraciones de AGS entre los meses de marzo a mayo (Butler et al., 2008). Un reciente estudio llevado a cabo en Polonia sugiere que las diferencias estacionales se pueden llegar a detectar en 17 AG de la grasa de la leche (Rutkowska et al., 2015).

En un estudio realizado durante dos años por Elgersma et al. (2006), se observó que la concentración de AGI fueron mayores en verano (asociado a alimentación a base de hierba fresca) que en el invierno (asociado a dietas basadas en ensilado de maíz, ensilado de hierba y bagazo de cerveza).

El efecto de la época del año resulta difícil de explicar en los sistemas de producción que incluyen pastoreo que están sometidos a grandes variaciones estacionales produciéndose diferencias en la composición nutritiva del forraje a lo largo de todo el año.

#### **2.5.2.2. Variaciones regionales**

Las situaciones de temperatura y humedad extremas afectan a la producción y a la composición de la leche como se ha estudiado recientemente en Escocia en vacas

Frisonas (Hill y Wall, 2014). Se observó una disminución del total de la grasa de la leche conforme aumentaba el índice de temperatura y humedad en comparación a condiciones intermedias.

Se ha reportado en diferentes estudios (Collomb et al., 2002; Rutkowska et al., 2015) el aumento de determinados AG en la leche en zonas de montaña con alimentación exclusiva a base de pasto de montaña y alta montaña, de forma marcada del CLA (ruménico), ácido vaccénico, C18:1 *trans* y ácido esteárico. Los AG en leche que se han asociado a zonas bajas con la alimentación a base de maíz y concentrados aunque también al pasto, son AGS de C4:0 a C16:0. Esto se demostró en un estudio reciente realizado en Polonia (Rutkowska et al., 2015), donde además se definía una tercera región con mayor presencia de ácido linoleico en leche, debido al mayor aporte de este AG en la dieta a través de ensilado de maíz y concentrados de cereales. En países como Irlanda, Nueva Zelanda y Suiza se han encontrado las mayores concentraciones de ácido ruménico, lo cual se relaciona con la alimentación a base de pastos y hierba de montañas y tierras altas (Elgersma et al., 2006).

#### **2.5.2.3. Sistemas de producción**

Los sistemas de producción, convencionales o ecológicos, presentan diferencias importantes en la composición de la grasa de la leche (Dewhurst et al., 2006). Estas diferencias derivan de sus diferentes estrategias de alimentación, siendo el forraje una fuente rica en AGPI predominantes en sistemas ecológicos, en comparación a los sistemas convencionales que utilizan básicamente ensilados y concentrados casi todo el año. Así pues, en los ecológicos presentan mayor contenido en ácido ruménico y vaccénico especialmente en períodos de mayo a septiembre (mayor disponibilidad de pastos).

La fertilización nitrogenada aumenta las concentraciones AG de los pastos (Dewhurst et al., 2006), con ello se ha visto que el distinto manejo de pastos realizado puede aumentar el aporte de ácido linolénico en la dieta.

#### **2.5.2.4. Estrategia de alimentación**

Se ha visto en los apartados anteriores que la razón última de variaciones en el perfil de ácidos grasos es la alimentación, ya que esta varía según la época del año, zona,

sistemas de producción, etc. La alimentación es el principal factor que afecta a la composición de la grasa de la leche y son numerosos los estudios que lo demuestran (Chilliard et al., 2001; Chilliard y Ferlay 2004; Lock y Bauman , 2004; Dewhurst et al., 2006; Shingfield et al., 2008; Morales-Almaraz et al., 2010; 2011, Hernandez-ortega et al., 2014). El consumo de pastos aumenta en la grasa de la leche la cantidad de CLA y trans AG en comparación a dietas a base de forrajes secos o ensilados. Ello se ha atribuido a la mayor ingesta de AGPI lo cual supone un mayor aporte de sustratos para síntesis de ácido ruménico y ácido vaccénico en el rumen.

Los efectos dietéticos pueden agruparse en tres categorías en función del método de acción:

- a) factores que proporcionan sustratos lipídicos para la biohidrogenación en el rumen (aceites vegetales, semillas oleaginosas, grasas animales).
  - b) factores que alteran el medioambiente ruminal (forrajes, concentrados, aceites de pescado,etc.).
  - c) factores que combinan sustratos lipídicos y modificación de la microbiota ruminal (pasto).
- a) factores que proporcionan sustratos lipídicos para la BH en el rumen (aceites vegetales, semillas oleaginosas, grasas animales).

Los suplementos de grasa pueden encontrarse como aceites de semillas, sales de calcio de ácidos grasos, aceite de palma, sebo, aceite de soja alto en oleico y nuevas variedades de semilla de colza alta en acido linolénico.

Los aumentos en la concentración de AG específicos en la leche resultan en cambios específicos de otros AG. Así el uso de aceites vegetales y semillas oleaginosas disminuye la concentración de AGS y aumenta el ácido oleico, el ruménico o el  $\omega$ -3 y resulta en un incremento en el contenido de trans AG en leche (Shingfield et al., 2008). Los cambios en la composición de los AG de la leche dependen de la cantidad de aceite incluido en la dieta, el perfil de AG de los lípidos suplementados, la forma del lípido suplementado y de la composición de la dieta de base.

La incorporación a la dieta de aceites vegetales como los de girasol, soja, maíz, colza, lino, cártamo y cacahuetes suele producir incrementos importantes en la concentración de CLA en leche (Dhiman et al., 2000). Los aceites ricos en linoleico son más eficientes para incrementar el CLA en leche que los ricos en oleico y linolénico, porque una elevada suplementación con ácido linoleico induce a que pase mayoritariamente sin ser modificado por la flora ruminal a la glándula mamaria para sintetizar ácido ruménico.

Suplementar las dietas con semillas de oleaginosas también produce incrementos de la concentración de ácido ruménico en leche, como se ha visto en dietas basadas en pastoreo a través de la inclusión de soja y colza, sobre todo por la inclusión de esta última (Lawless et al., 1998). Estos incrementos pueden ser mayores cuando las semillas son procesadas. Por ejemplo, la utilización de semillas procesadas de soja y de algodón (Dhiman et al., 1999) o de semillas de lino extrusionadas (Fuentes et al., 2006) produce mayores incrementos de CLA y vaccénico en leche de vaca.

Suplementar la dieta con aceite de pescado o lípidos marinos para suministrar AGPI de cadena larga, como el eicosapentainoico (EPA; C20:5) y el docosahexaenoico (DHA, C22:6), representa una estrategia efectiva para incrementar las concentración en grasa de la leche de ácido vaccénico y ácido ruménico, aunque puede inducir el síndrome de baja grasa en leche (Shingfield et al., 2008).

- b) factores que alteran el medioambiente ruminal (forrajes, concentrados, aceites de pescado,etc.).

La alimentación con alta inclusión de cereales en la dieta reduce el pH por debajo de 6, por lo que se afecta a la microbiota ruminal y se reduce la disponibilidad de ácido vaccénico y ruménico en leche (Mackie et al., 1997). La suplementación con cereales produce resultados diversos sobre las concentraciones de CLA, oleico, linolenico y linoleico en leche. La relación almidón y fibra en la dieta es importante en el mantenimiento de la lipólisis de la grasa de la dieta y consiguiente BH de intermediarios en el rumen (Griinari y Bauman, 2006). La suplementación con concentrado a base de maíz, cuyo AG predominante es el linoleico, aumenta la concentración de CLA en leche en animales en pastoreo frente a animales alimentados con TMR basada en ensilado de maíz (Schroeder et al., 2003), sin embargo, hay efectos contradictorios en otros estudios

(Nielsen et al., 2006). La mayor suplementación con concentrado puede disminuir el consumo del pasto con ello disminuiría el aporte de AGPI y en especial del linolénico.

Los AGI de las plantas se oxidan una vez la planta es segada, lo que representa la principal pérdida de AG (Dewhurst et al., 2006). El marchitado de la planta durante el proceso de henificado o antes del ensilado, está asociado a disminuciones en las concentraciones del total AG y AGPI debido a las perdidas oxidativas y los destrozos en las hojas. (Shingfield et al., 2008). Más del 75% de las pérdidas de  $\omega$ -3 ocurren durante el secado del forraje fresco. Estas pérdidas son todavía más marcadas cuando se deja avanzar el cultivo forrajero en madurez con intención de aumentar la producción de MS/ hectárea antes de la henificación en comparación al manejo del forraje fresco o forraje ensilado. Sin embargo, la alimentación de vacas a base de henos transfiere mayor cantidad de  $\omega$ -6 y  $\omega$ -3 a la leche que con la alimentación a base de ensilados. Estas observaciones parecen estar relacionadas con cambios en el metabolismo ruminal de los lípidos y cambios en los lípidos del forraje durante la conservación.

En los ensilados, el marchitamiento antes del ensilaje supone unas pérdidas del 40% del ácido linoleico y del 30% del total de AG. Estas pueden disminuir si se proporciona una buena compactación y sellado del silo, así como mediante la adición de aditivos (como el ácido fórmico). El ensilado de maíz contiene muy bajos niveles de linolénico y niveles más altos de oleico, las dietas basadas en ensilado de maíz resultan en niveles más bajos de AGPI en leche si se comparan con dietas a base de avena (Schroeder et al., 2003), pasto (Rego et al., 2004) o mezcla de ensilados de hierba y trébol (Havemose et al., 2004). Aunque se producen efectos variables (Nielsen et al., 2006) como una mayor concentración de ácido ruménico y C18:1 *trans-10* en leche de vacas alimentadas con ensilado de maíz y suplementadas con concentrados que con dietas basadas en ensilado de pasto.

Hay evidencias en que los forrajes de leguminosas aumentan la concentración en leche de los AGPI en comparación a las gramíneas (Shingfield et al., 2008). Al comparar el ensilado de hierba y el ensilado de leguminosas se ve que en leche aumentan el C18:2 *n-6* y el C18:3 *n-3* (Dewhurst et al., 2006) especialmente al usar trébol rojo que parece aumentar la transferencia de C18:3 *n-3*, a la leche debido a los efectos inhibitorios que tienen sus complejos lípido-fenoles sobre la lipólisis ruminal. También se ha visto al reemplazar el ensilado de raigrás en manejo intensivo con ensilado de

pradera natural produce una disminución de la concentración en leche de C12:0, C14:0 y C16:0 y un aumento de vaccénico y ruménico (Shingfield et al., 2008). Al comparar el ensilado de maíz con el ensilado de hierba, no se encuentran diferencias en el ruménico en leche, siendo mayor en dietas con ensilado de maíz el  $\omega$ -6 y menores en  $\omega$ -3. Al comparar dietas basadas en henos con dietas basadas en ensilado de maíz se han detectado muchas variaciones en el perfil de AG, como son una disminución de AG de cadenas ramificadas, C18:2 *trans-11, cis-15*, CLA *trans-11, cis-13*, CLA *trans-11, trans-13* y CLA *trans-11, trans-14* e incrementos en C18:1, *cis-11* y CLA *trans-10, cis-12* entre otros, en dietas basadas en ensilado de maíz (Shingfield et al., 2008).

Las variaciones genéticas de los forrajes utilizados en alimentación de vacuno lechero (gramíneas y leguminosas) presentan diferencias en la composición de sus AG (Dewhurst et al., 2006). Los efectos genéticos del forraje suelen estar enmascarados por otros factores de tipo ambiental como son la luz, el intervalo entre cortes, la estación así como la fertilización del cultivo. No existe un consenso entre si las diferencias genéticas del forraje son importantes para los niveles de AG.

- c) factores que combinan sustratos lipídicos y modificación de la microbiota ruminal (pasto).

Numerosos estudios muestran que las dietas basadas en forraje fresco aumentan el contenido de CLA y AG *trans* en comparación a dietas a base de forraje seco o forrajes ensilados (Elgersma et al., 2004, Shingfield 2008). Se ha visto que los pastos a base de trébol incrementan la concentración C18:3 *n-3* en leche (Dewhurst et al., 2006). Los pastos alpinos se ha visto que son particularmente efectivos en el aumento de CLA en leche en comparación al uso de forrajes conservados y pastos en zonas bajas (Kraft al., 2003). Los aumentos CLA en leche en pasto se acompaña de aumento en AG *trans* y menores concentraciones de C12:0, C14:0 y C16:0 al compararlo con ensilados (Shingfield et al., 2008). La diversidad botánica del pasto consiguió enriquecimientos en leche en ácido vaccénico, ácido ruménico, C18:2 *n-6* y C18:3 *n-3* al compararlo con pastos pobres en variedades de especies (Shingfield et al., 2008).

Con forraje fresco a base de avena, se han observado incrementos en linolénico y CLA, y disminuciones de AG de cadena corta y media, en comparación con vacas alimentadas con TMR (Schroeder et al., 2003). El consumo de pasto natural de montaña puede

aumentar los contenidos en leche de ácido esteárico, ácido oleico, ácido vaccénico y ruménico, mientras el contenido en ácidos grasos de cadena corta y media se asocian a alimentaciones a base de concentrados (Ferlay et al., 2006). Mayores concentraciones en ácido linolénico en leche de vaca se observan con dietas basadas en raigrás y suplementadas con trébol blanco (van Dorland et al., 2008).

Diversos efectos sobre el perfil de AG de la leche se han determinado en pastoreo al evaluar la ingestión de este durante el día o durante la noche (Hernández-Ortega et al., 2014). Los kg de MS ingerida de forraje se incrementan durante la noche, consecuentemente la proporción de AGPI se incrementa en leche con el pastoreo nocturno, especialmente la concentración de C18:2, *n*-6 y ácido ruménico, también se producen aumentos de AG *trans*, como el C18:1 *trans*-9, aumentos en C16:1 *cis*-9, y C15:0, así como disminuciones de C18:0. Sin embargo, el comportamiento habitual de ingestión de las vacas con ración *ad libitum* es disminuir la ingestión de MS durante la noche (Devries et al., 2003).

En la tabla 2.3, 2.4 y 2.5, se resumen los efectos sobre el perfil de AG de las diferentes estrategias de alimentación.

Tabla 2.3. Resumen de los efectos sobre el perfil de ácidos grasos de las diferentes estrategias de alimentación. Factores que proporcionan sustratos lipídicos para la biohidrogenación en el rumen.

**ESTRATEGIAS DE ALIMENTACIÓN Y LOS EFECTOS EN EL PERFIL DE ACIDOS GRASOS DE LA LECHE**

- a) Factores que proporcionan sustratos lipídicos para la biohidrogenación en el rumen (aceites vegetales, semillas oleaginosas, grasas animales).

	<b>Aumentos</b>	<b>Disminuciones</b>	Fuente
Semillas oleaginosas de soja y colza	ácido ruménico	-	Lawless et al., 1998
Semillas procesadas de soja y algodón; semillas de lino extrusionadas	ácido ruménico y vaccénico	-	Dhiman et al., 1999
Aceites vegetales: girasol, soja, maíz, colza, lino, cártamo, cacahuetes	ácido ruménico	-	Fuentes et al., 2006
Aceites vegetales y semilla oleaginosas	ácido oleico, ruménico, ω-3, AG <i>trans</i>	-	Dhiman et al., 2000
Aceites de pescados o lípidos marinos (fuentes de C20:5 EPA y C22:6 DHA)	ácido ruménico y vaccénico	AGS*	Shingfield et al., 2008

\*Puede inducir el síndrome de depresión de la grasa en leche

Tabla 2.4. Resumen de los efectos sobre el perfil de ácidos grasos de las diferentes estrategias de alimentación. Factores que alteran el medioambiente ruminal.

ESTRATEGIAS DE ALIMENTACIÓN Y LOS EFECTOS EN EL PERFIL DE ACIDOS GRASOS DE LA LECHE				
b) Factores que alteran el medioambiente ruminal (forrajes, concentrados, aceites de pescado,etc.)				
	Variables	Aumentos	Disminuciones	Fuente
Cereales	ácido ruménico, oleico, linolénico y linoleico	-	ácido ruménico y vaccénico	Mackie et al., 1998 Griinari y Bauman, 2006
<b>Pasto y concentrados</b> <b>a base maíz vs</b> ensilado maíz	-	CLA	-	Schroeder et al., 2003 Nielsen et al., 2006
<b>Ensilado maíz vs</b> avena; vs ensilados de hierba y trébol; vs pasto	CLA	-	-	Havemose et al., 2004 Rego et al., 2004
<b>Ensilado maíz y</b> <b>concentrados vs</b> ensilados pasto	aumentos ácido ruménico y C18:1 trans-10	-	-	Nielsen et al., 2006
<b>Ensilado maíz vs</b> ensilados de hierba	-	ω- 6	ω-3	Shingfield et al., 2008
<b>Ensilado de</b> <b>leguminosas vs</b> ensilado hierba	-	ω-6 y ω-3	-	Dewhurst et al., 2006
<b>Ensilado pradera</b> <b>natural vs ensilado</b> raigrás en manejo intensivo	-	ácido ruménico y vaccénico	C12:0, C14:0 y C16:0	Shingfield et al., 2008
<b>Heno vs ensilado</b>	-	ω- 6 y ω-3	-	Dewhurst et al., 2006

Tabla 2.5. Resumen de los efectos sobre el perfil de ácidos grasos de las diferentes estrategias de alimentación. Factores que combinan sustratos lipídicos y modificación de la microbiota ruminal.

---

**ESTRATEGIAS DE ALIMENTACIÓN Y LOS EFECTOS EN EL PERFIL DE ACIDOS GRASOS DE LA LECHE**

---

c) Factores que combinan sustratos lipídicos y modificación de la microbiota ruminal (pasto)

	<b>Aumentos</b>	<b>Disminuciones</b>	<b>Fuente</b>
<b>Pastos alpinos vs forrajes conservados y pasto zonas bajas</b>	CLA	-	Kraft et al., 2003
<b>Forraje fresco a base de avena vs TMR</b>	CLA y ácido linolénico	AG cadena corta y media	Schroeder et al., 2003
<b>Forraje fresco vs forrajes conservados</b>	ácido ruménico y AG trans	-	Elgersma et al., 2004; Shingfield et al., 2008
Pasto en base a trébol	ω-3	-	Dewhurst et al., 2006
Pasto natural de montaña	C18:0, ω-3, ácido ruménico y vaccénico	-	Ferlay et al., 2006
<b>Pasto vs ensilados raigrás y suplementadas con trébol blanco</b>	CLA y <i>trans</i> AG ácido linolénico	-	Shingfield et al., 2008 van Dorland et al., 2008

---

### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**



### **3. Material y métodos**

#### **3.1. Selección de las explotaciones**

Para la realización del trabajo se seleccionaron 16 explotaciones a partir de los resultados de una encuesta realizada previamente con el fin de establecer los sistemas de alimentación característicos de las explotaciones lecheras del Principado de Asturias. Dicha encuesta se realizó en una muestra estratificada del 2% del total de ganaderías bovinas lecheras con cuota láctea asignada en Asturias en el año 2013 (N=2446), según los datos cedidos por la Consejería de Agroganadería y Recursos Autóctonos del Principado de Asturias. Las ganaderías se ordenaron en función de su cuota láctea asignada, dividiéndose en cuatro grupos equilibrados:  $\leq 175\text{t}$ ,  $175\text{-}325\text{ t}$ ,  $325\text{-}500\text{ t}$ ,  $\geq 500\text{ t}$  de cuota láctea. Paralelamente se estudió la distribución geográfica de las explotaciones. El Principado de Asturias se divide tradicionalmente en 6 zonas climatogeográficas: centro interior, centro costa, oriente interior, oriente costa, occidente interior y occidente costa. Se observó que las zonas centro costa, occidente costa y occidente interior aglutinaban el 82% del total de explotaciones lecheras y el 90% de la producción de leche, por lo que el muestreo se restringió a estas tres zonas mayoritariamente y al concejo de Piloña de la zona oriente interior por su importancia en la industria láctea.

Las explotaciones fueron encuestadas acerca del sistema de producción, tomándose datos del rebaño, producción, mano de obra, base territorial, pastos, cultivos forrajeros, conservación de forrajes, sistemas de alimentación e instalaciones. Los datos de las encuestas fueron analizados mediante análisis de componentes principales (ACP) que establecieron que los dos criterios que mejor definen los sistemas de producción son el pastoreo o la estabulación permanente, y dentro de esta última el porcentaje de superficie agraria útil (SAU) dedicada al cultivo de maíz forrajero. Por lo tanto, se establecieron cuatro tipos de sistemas de producción:

- explotaciones con pastoreo (Tipo pasto ó P).
- explotaciones sin pastoreo:
  - $\leq 20\%$  de la SAU dedicada al maíz (Tipo ensilado hierba ó SH).
  - 20-75% de la SAU dedicada al maíz (Tipo ensilado hierba y maíz ó SHSM).
  - $\geq 75\%$  de la SAU dedicada al maíz (Tipo ensilado de maíz ó SM).

Finalmente se seleccionaron de entre las previamente encuestadas, 16 ganaderías de tal modo que hubiese cuatro explotaciones por cada sistema de producción y estuvieron representadas todas las zonas geográficas con producción significativa y todos los estratos de producción.

En la figura 3.1 se indican los concejos dónde se llevó a cabo el estudio y el número de ganaderías estudiadas.

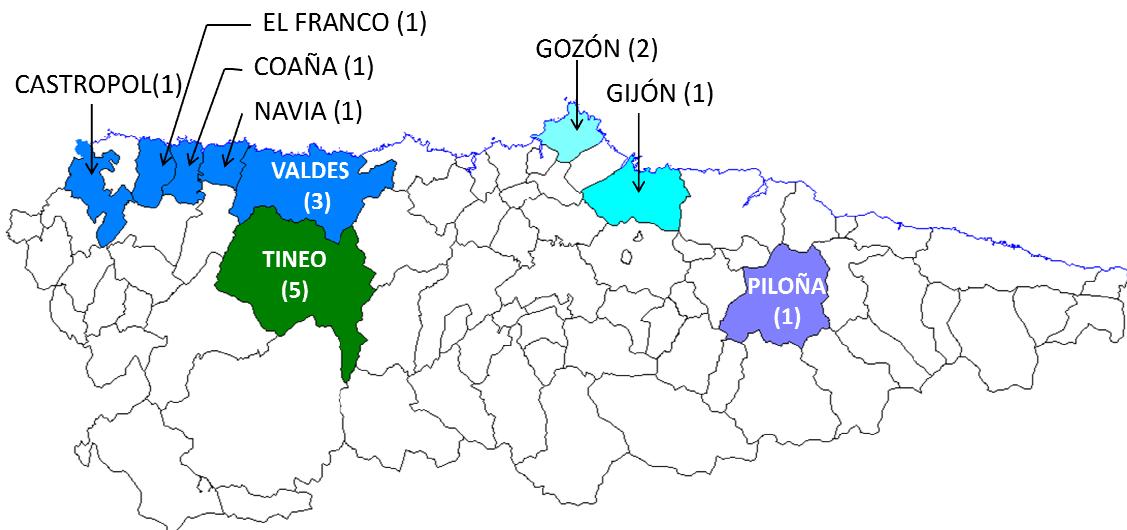


Figura 3.1. Mapa de los concejos dónde se realizó el muestreo. Entre paréntesis el número de ganaderías estudiadas en cada concejo.

En la tabla 3.1 se muestra un resumen de las características de las explotaciones a las que se ha realizado el seguimiento durante un año.

Tabla 3.1. Características de las explotaciones estudiadas.

Código	Tipo	Concejo	Nº vacas	kg Cuota	ha SAU
AS-1	Pastoreo (P)	Gijón	30	260.898	30
AS-2	Pastoreo (P)	Tineo	61	289.850	36
AS-3	Pastoreo (P)	Tineo	20	134.127	14
AS-4	Pastoreo (P)	Castropol	11	62.600	10
AS-5	Ensilado Hierba (SH)	Tineo	20	197.158	23
AS-6	Ensilado Hierba (SH)	Tineo	39	256.004	8
AS-7	Ensilado Hierba (SH)	Valdés	10	79.178	9
AS-8	Ensilado Hierba (SH)	Valdés	36	321.938	30
AS-13	Ensilado de Hierba y Maíz (SHSM)	Gozón	24	132.349	24
AS-14	Ensilado de Hierba y Maíz (SHSM)	Piloña	72	665.417	23
AS-15	Ensilado de Hierba y Maíz (SHSM)	Tineo	90	914.741	45
AS-16	Ensilado de Hierba y Maíz (SHSM)	Coaña	36	275.696	27
AS-9	Ensilado de Maíz (SM)	Gozón	50	439.585	12
AS-10	Ensilado de Maíz (SM)	Navia	80	983.734	67
AS-11	Ensilado de Maíz (SM)	Valdés	103	1.221.674	52
AS-12 <sup>1</sup>	Ensilado de Maíz (SM)	El Franco	139	1.563.549	60

<sup>1</sup>La ganadería AS-12 decidió no seguir colaborando en el estudio después de realizar el primer muestreo.

### 3.2. Encuestas de alimentación y toma de muestras

En las ganaderías seleccionadas, se realizó un seguimiento de alimentación y producción a lo largo de un año, con una visita trimestral a cada una de ellas desde el verano de 2014 a la primavera de 2015. En cada visita se realizó una encuesta acerca de la alimentación de los animales en ese momento, efectuando una toma de muestras de los alimentos y de la leche. Las encuestas de alimentación requerían información sobre el número de animales en producción, la producción de leche y el manejo de la alimentación (carro mezclador, pastoreo, suplementación, etc.) y composición de la ración en el momento de la encuesta. En el anexo I se muestra la encuesta realizada en cada una de las visitas.

Se tomaron muestras de todos los alimentos que las vacas en lactación habían ingerido los tres días previos a la visita y en las explotaciones que realizaban mezcla con carro

mezclador de la ración hecha ese día. Las muestras de alimentos frescos (forraje verde, ensilados y mezclas unifeed) fueron trasportadas refrigeradas a 4°C, mientras que las secas (concentrados, henos y paja) a temperatura ambiente, para ser analizadas en el laboratorio de Nutrición Animal del SERIDA.

Simultáneamente en cada visita se tomaron dos muestras de la leche del tanque utilizando un muestreador, tras la agitación de la leche del tanque con el fin de lograr una distribución homogénea de los componentes de la misma, especialmente de la materia grasa. Las visitas a las explotaciones, y por tanto el muestreo de la leche se coordinó con los ganaderos con el fin de que hubiera un número par de ordeños en el tanque. Las muestras de leche se mantuvieron refrigeradas a 4°C en botes de 50 ml con azidiol como conservante. Una de las muestras se envió para su análisis químico al Laboratorio Interprofesional Lechero de Asturias (LILA, Llanera, Asturias) y la segunda analizó inmediatamente para determinar el perfil de AG en el laboratorio de Nutrición Animal del SERIDA.

### **3.3. Análisis de laboratorio**

#### **3.3.1 Alimentos**

Las muestras de alimentos fueron analizadas en el laboratorio de Nutrición Animal del SERIDA, Laboratorio Oficial del Principado de Asturias en materia de análisis de alimentos destinados al ganado, acreditado por la Entidad Nacional de Acreditación, ENAC (LE/930) mediante espectroscopía en el infrarrojo cercano (NIR), a través de ecuaciones de predicción específicas desarrolladas en el SERIDA utilizando un equipo NIRSystem 5000 (FOSS NIRSystem. Silver Spring, MD, USA).

La Espectroscopía por Reflectancia en el Infrarrojo Cercano (NIRS) es un procedimiento analítico de carácter físico, rápido, no destructivo, que utiliza una tecnología limpia con el medio ambiente y de bajo coste. A pesar de ello a nivel de laboratorio es una tecnología sensible a factores físicos como la temperatura, el envejecimiento de la fuente de luz o a distorsiones instrumentales que pueden afectar a la validez de los modelos a largo plazo (Davies y Williams, 1996).

Esta técnica se basa en hacer incidir un haz de luz en un rango de longitud de onda comprendido entre los 700 y los 2500 nm (infrarrojo cercano), sobre una muestra. Dicha muestra absorbe o refleja la luz en el rango de longitudes de onda descrito formando un

espectro. Los alimentos, en función de su composición y de la naturaleza química, al ser incididos por el haz de luz en el infrarrojo cercano sufren cambios en el movimiento de sus electrones, fundamentalmente en los enlaces en los que el hidrógeno se encuentra unido a carbono, nitrógeno u oxígeno, produciendo un patrón espectral único para cada muestra recogida. La forma más usual de cuantificar la absorción de una muestra en el infrarrojo cercano es a través de la medida de la energía reflejada a diferentes longitudes de onda y expresada como  $\log(1/R)$ , en cuyo caso se habla de Espectroscopía NIR o bien la transmitida a través de la muestra y expresada como  $\log(1/T)$  o Espectroscopía NIT.

Para realizar predicciones utilizando la tecnología NIRS, es necesario establecer previamente ecuaciones de calibración a partir de un número representativo de muestras analizadas por métodos oficiales de vía húmeda en laboratorio.

En forrajes frescos se determinó el contenido en materia seca, cenizas, materia orgánica, proteína bruta, fibra ácido detergente y fibra neutro detergente (libres de cenizas). En los ensilados además de las determinaciones anteriores se midió el pH y se determinó el contenido en fibra bruta y, en el ensilado de maíz, el almidón. En todos los forrajes, tanto frescos como conservados, se estimó la digestibilidad enzimática de la materia orgánica. En los piensos y mezclas unifeed se determinó la materia seca, cenizas, materia orgánica, extracto etéreo, proteína bruta, fibra bruta, fibra ácido detergente y fibra neutro detergente (libres de cenizas) y el almidón. En todos los alimentos se estimó la energía metabolizable según MAFF (1984), unidades forrajeras lactación (INRA, 1981) y energía neta lactación (NRC, 1989).

Si para alguna muestra de alimento no se dispone de ecuaciones específicas de predicción por NIR, la analítica se realiza por vía húmeda mediante fraccionamiento por método Weende (AOAC, 1984) y Van Soest (1991).

### **3.3.2. Leche**

El análisis químico de la leche se llevó a cabo en el Laboratorio Interprofesional Lechero de Asturias (LILA, Llanera, Asturias) acreditado por ENAC (LE/476). Se determinó la concentración de lactosa, grasa, proteína, urea y extracto seco magro mediante FTIR, (infrarrojo con transformada de Fourier) con equipos de reflectancia del infrarrojo medio (MilkoScan FT 6000).

El perfil de AG de la leche se analizó en el SERIDA y se determinó con un cromatógrafo de gases-masas (VARIAN 3800GC-4000MS Varian Inc. Palo Alto, CA, USA con trampa de iones).

El fundamento de la cromatografía de gases-masas se basa en que una vez obtenido el extracto de ácidos grasos de la muestra, este se va a volatilizar e inyectar en la columna del equipo. La columna contiene en sus paredes una fase estacionaria por la cual los analitos van a eluir a distinto tiempo en base a la distinta afinidad que tienen por la fase estacionaria. La fase móvil o portadora es gas helio, que no interacciona con los analitos. La columna se encuentra dentro de un horno, provisto de un programa en el que se han ajustado las condiciones de temperatura (rampa de temperatura, tiempo de elución y el punto isocrático) previamente optimizado para la determinación de ácidos grasos en leche. El segundo componente del equipo es un espectrómetro de masas. Este es el analizador del equipo de cromatografía y contiene una trampa de iones. Cuando los analitos llegan a la trampa de iones a distinto tiempo (tiempo de retención) son bombardeados por una fuente de ionización, la cual es un haz de electrones de elevada energía (laser). Los analitos son mayoritariamente ionizados y salen de la trampa de iones debido a un cambio gradual en el voltaje aplicado en base a su relación carga/masa.

El procedimiento analítico consiste en una primera fase en la que se separan los ésteres metílicos. Para ello, se separó la nata de la leche siguiendo la técnica propuesta por Feng et al., 2004, mediante centrifugación a 17800 xg, 30 min a 4°C (Biofuge Stratos, Heraeus Instruments). Un gramo de nata se trasvasó a un Eppendorf de 1,5 ml y se centrifugó a 19300 xg, durante 20 min a temperatura ambiente (Eppendorf centrifuge 5425R). Ello da lugar a la formación de tres capas: capa superior de lípidos, capa intermedia de proteína, grasa y sólidos insolubles y la capa inferior de agua. Se pesó en un tubo de cristal 40 mg de la capa superior de lípidos sobre la que se realizó la metilación de los AG según Christie (1982) con modificaciones de Chouinard et al. (1999). Para ello se realizó una combinación de catálisis básica inicial mediante la adición de 2 ml hexano y 40 µl de metil acetato, tras agitar medio minuto, se adicionó 40 µl de metilato de sodio agitando de nuevo. Tras dejar reaccionar 10 min a temperatura ambiente se realizó una catálisis ácida con 60 µl de ácido oxálico éter dietílico dejando reaccionar 3 min a temperatura ambiente. La extracción de los ésteres metílicos de los ácidos grasos formados en la fase anterior, se realizó mediante

centrifugación a 1500 xg, 5 minutos a 5°C. Finalmente se succionó la capa orgánica sobrenadante con una jeringa y se filtró a través de un filtro de 0,20 µm de diámetro de poro (AGILENT, PTFE 0,2 µm). Con el extracto filtrado se prepararon dos diluciones con 30 µl y 100 µl del extracto hasta un volumen final de 4 ml con hexano y se añadió 50 µl C19:0 como estándar interno. Las muestras se pincharon en el cromatógrafo de GC-MS mediante inyección automática, dos inyecciones por cada muestra. Entre dos muestras se programa un ciclo de limpieza con hexano.

Para el análisis cromatográfico se utilizó una columna de alta polaridad (CP SIL 88 VARIAN, 100m) para la separación de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) en el rango C6-C26 y separación de isómeros cis/trans. Se usó helio como gas portador con flujo de 1 ml/minuto. La temperatura del inyector y detector se mantuvo a 240°C. El perfil de ácidos grasos fue determinado por la inyección de 1 µl de muestra en modo Split. La programación de rampa de temperatura de la columna fue la siguiente: al inicio 40°C durante 1,20 min, después elevada a 140°C con un gradiente de 30°C/min y mantenida 25 min, elevada a 190°C con un gradiente de 1°C/min mantenida 15 min, elevada a 215°C con un gradiente de 1°C/min mantenida 8 min, finalmente elevada a 240°C con un gradiente de 30°C/min y mantenida 1 min. Cada pico fue identificado usando estándares metílicos (Metraya LLC y Sigma-Aldrich Inc.).

Por cada ácido graso detectado se obtuvo un pico en el cromatograma que relaciona la abundancia de ácido graso presente en la muestra con su tiempo de retención y un espectro que relaciona la carga/masa con el tiempo. Para cuantificar la cantidad de ácidos grasos presentes en la muestra se utilizó un software que realiza la integración del porcentaje de área bajo la curva de cada pico.

### **3.4. Análisis estadístico**

Los análisis estadísticos fueron realizados mediante el paquete estadístico R (R Core Team, 2014). Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) tomando como factor principal la clasificación de los sistemas de producción definida por el criterio de pastoreo (sí / no) y por el porcentaje de superficie destinada al cultivo de maíz para caracterizar la alimentación y producción de leche. Posteriormente, se realizó un análisis de cluster de los ingredientes que componían la ración en cada sistema y muestreo con el fin de definir los sistemas de alimentación característicos. Así pues, los

resultados de composición de la leche se evaluaron teniendo en cuenta tres factores fijos: el sistema de alimentación, la región y la estación, según el siguiente modelo:

$$y = \mu + \text{estación} + \text{región} + \text{sistema de alimentación} + \text{error}$$

Cuando hubo diferencias significativas entre grupos, se realizó el test de Duncan para comparar diferencias entre medias para grupos con tamaños poblacionales diferentes.

Se realizó un análisis multivariante por componentes principales (PCA) con la composición química y el perfil de ácidos grasos de la leche para hallar las causas de variabilidad del conjunto de datos.

## **4. RESULTADOS**



## 4. Resultados

### 4.1. Características de los sistemas productivos

Como se ha descrito en el apartado de Materiales y Métodos, la clasificación de las ganaderías estudiadas estaba realizada según la SAU destinada al cultivo de maíz (sistema pastoreo: P, sistema de ensilado de hierba: SH, sistema ensilado de hierba y maíz: SHSM, y sistema de ensilado de maíz: SM) a partir de los resultados obtenidos en la encuesta inicial. En la tabla 4.1 se muestran los porcentajes de forraje y concentrado utilizado en la ración en función del sistema de producción descrito, indicando si este forraje se producía en la explotación (forraje propio) o se compraba fuera de ella. Todos los sistemas producían mayoritariamente los forrajes que utilizaban en la ración (83% del forraje de la ración), sin embargo se observaron diferencias entre sistemas en la compra de forrajes. La proporción de forraje adquirido fuera de la explotación fue mayor en los sistemas de pastoreo (P) y de ensilado de hierba (SH) (16,1 y 14,7%, respectivamente,  $P < 0,05$ ). La menor proporción de forraje comprado se encontró en las explotaciones que cultivaban más maíz (SM) o en las que lo hacían combinado con otros forrajes (SHSM) (6,6 y 5,1%, respectivamente,  $P < 0,05$ ). No hubo diferencias entre la relación de forraje y concentrado entre los distintos sistemas, siendo esta 61: 39.

Tabla 4.1. Proporción de concentrado y forraje (propio o comprado) en cada sistema productivo.

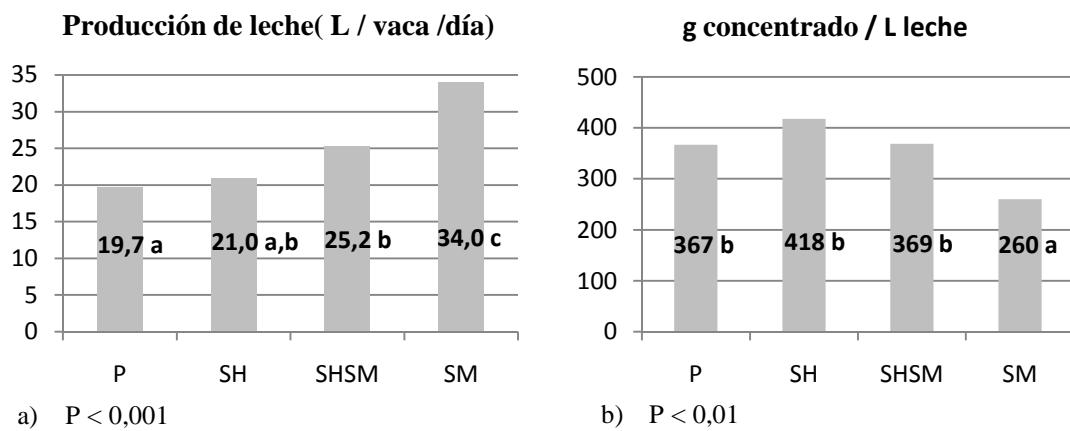
	P	SH	SHSM	SM	rsd	Significación
Concentrado	37,0	34,3	44,1	40,7	1,41	NS
Forraje	63,0	65,7	55,9	59,3	1,41	NS
Forraje propio	47,0	51,0	50,9	52,7	2,09	NS
Forraje comprado	16,1 <sup>c</sup>	14,7 <sup>b,c</sup>	5,1 <sup>a</sup>	6,6 <sup>a,b</sup>	1,51	*

P: pastoreo, SH: ensilado de hierba, SHSM ensilado de hierba y maíz y SM: ensilado de maíz.

Significación: NS: no significativa,  $P > 0,05$ ; \*:  $P < 0,05$ . Distintas letras a,b,c,d en una misma fila implican diferencias significativas entre sistemas productivos.

Al representar la producción media de leche por vaca y día (figura 4.1.a) se vio que el sistema SM presentó la mayor producción (34,0 L / vaca / día,  $P < 0,001$ ). Los sistemas que tuvieron las menores producciones (20,3 L / vaca /día,  $P < 0,001$ ) fueron los clasificados como de pastoreo (P) o los que cultivaban menos maíz (SH), mientras que

el sistema SHSM presentó producciones intermedias (25,2 L / vaca / día,  $P < 0,05$ ). Por otro lado, las ganaderías que usaron menor cantidad de concentrado para producir un litro de leche (figura 4.1.b) fueron las que cultivaban más maíz (260 g concentrado / L leche) mientras que los otros sistemas necesitaban 385 g de concentrado de media para producir un litro de leche ( $P < 0,01$ ).



P: pastoreo, SH: ensilado de hierba, SHSM ensilado de hierba y maíz y SM: ensilado de maíz.

Figura 4.1. Producción de leche (L / vaca / día) y cantidad de concentrado por litro de leche en función de los sistemas productivos.

## 4.2. Características de los sistemas de alimentación

Como esta clasificación está basada en dos criterios: uso de pastoreo y porcentaje de superficie que se destina al cultivo de maíz, es invariable a lo largo del tiempo y por ello no contempla las variaciones en los ingredientes que componen la dieta a lo largo del año. Así pues, con las dietas reales que fueron ofertadas a las vacas se reclasificaron las explotaciones según la composición de la dieta, y se estudió la producción y composición de la leche según esta nueva clasificación.

En las encuestas que los ganaderos contestaban en cada visita de seguimiento, se aportaba información relativa a la proporción de kilogramos de cada ingrediente en materia fresca. A partir del valor de MS de cada ingrediente se calculó la composición de cada ración.

El consumo de hierba en las ganaderías que practicaban pastoreo, se estimó sustrayendo la ingestión de materia seca del resto de los ingredientes de la ración al consumo teórico total de las vacas, calculado mediante la ecuación:  $MSI_T(\text{kg MS/vaca/día}) = 12 + PL/3$ , adaptada de la ecuación de predicción de la materia seca ingerida para vacas Holstein en lactación del NRC (2001), considerando vacas de 620 kg de peso vivo en mitad de la lactación, siendo PL la producción diaria de leche en litros.

Una vez obtenidas las composiciones de ingredientes de las raciones se realizó un análisis tipo cluster que permitió diferenciar los distintos sistemas de alimentación (figura 4.2).

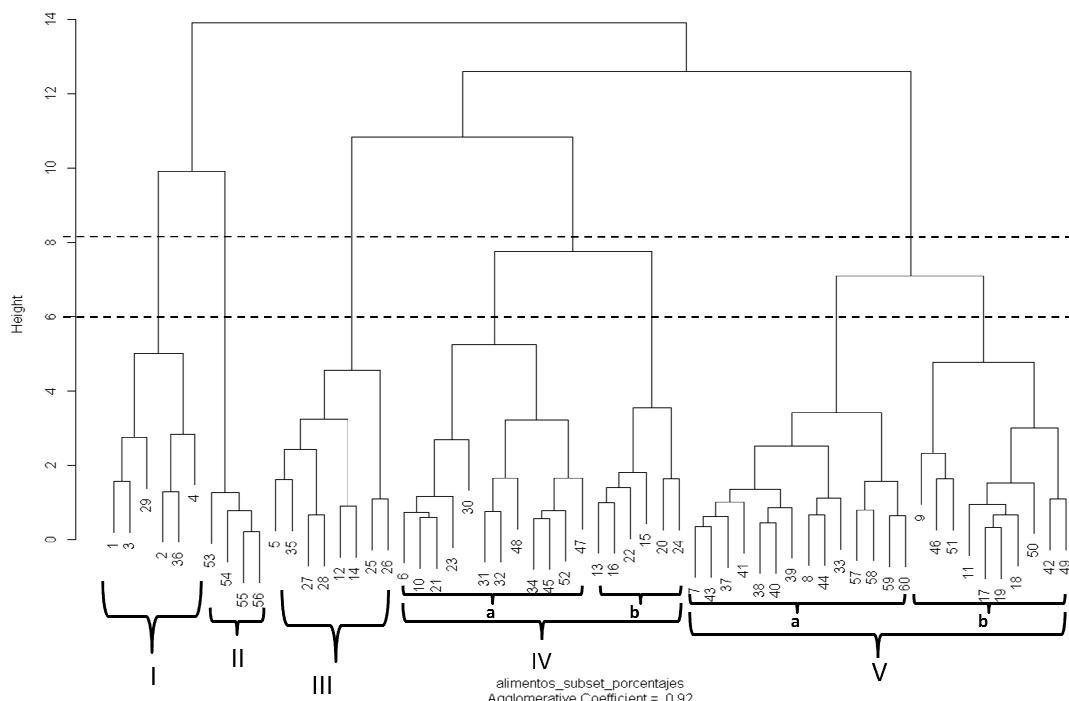


Figura 4.2. Dendrograma resultante de análisis de cluster de ingredientes que componían la ración. Se señala la línea de corte para realizar la clasificación en 5 cluster: I, II, III, IV y V y en 7 cluster: I, II, III, IVa, IVb, Va, Vb.

En el dendrograma generado tras el análisis de cluster, se pueden observar las distintas posibilidades de realizar agrupaciones de raciones. Se hicieron dos cortes a diferentes

alturas del dendrograma. El primer corte que se consideró (altura 8, figura 4.2) permitió establecer cinco cluster principales (I - V), si bien con un segundo corte, se establecían siete grupos (altura 6, figura 4.2) pudiéndose dividir los cluster IV y V en dos subcluster cada uno (IV a, IV b, V a y V b). Así pues, los sistemas de alimentación identificados fueron:

- I: Pastoreo
- II: Ensilado de maíz
- III: Ensilado de hierba
- IV: Ensilado de hierba con forraje seco

IV a: Bajo forraje seco

IV b: Alto forraje seco

- V: Alto concentrado, con ensilado de hierba y maíz.

V a: Bajo ensilado de maíz

V b: Alto ensilado de maíz

Finalmente se decidió elegir la clasificación de cinco cluster, porque el análisis estadístico de los datos posteriores no aportaba información adicional entre ambos subcluster, porque la diferente proporción de forraje seco entre IVa y IVb y de ensilado de maíz entre Va y Vb, no tenía efecto sobre la composición química de la leche.

En la tabla 4.2 se muestra la composición de la dieta en base a esta nueva caracterización de los sistemas de alimentación.

Tabla 4.2. Clasificación de los sistemas de alimentación después de un análisis de conglomerados teniendo en cuenta los ingredientes que conformaban la ración.

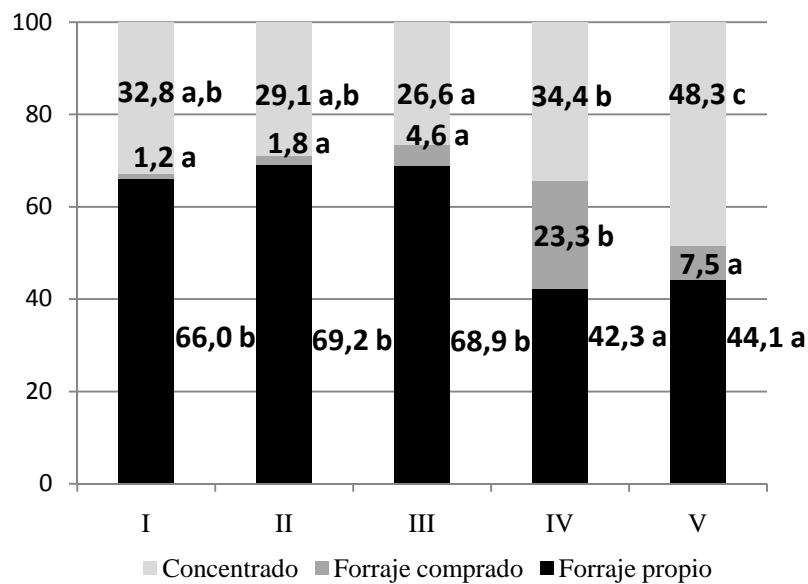
	I (n = 6)		II (n = 4)		III (n = 8)		IV (n = 18)		V (n = 24)	
	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
Pasto	<b>40,4</b>	15,66	0,0	-	10,6	12,19	10,1	10,2	0,9	2,97
Ensilado maíz	22,8	17,25	<b>61,9</b>	4,97	2,0	5,57	8,8	11,8	<b>17,3</b>	15,01
Ensilado hierba	2,8	6,81	7,3	5,89	<b>56,3</b>	8,76	<b>23,4</b>	9,0	<b>25,9</b>	13,17
Forraje seco <sup>1</sup>	1,2	1,92	1,8	1,19	4,6	7,83	<b>23,3</b>	12,5	7,5	8,22
Concentrado	32,8	8,58	29,1	2,07	26,6	7,30	34,4	6,8	<b>48,3</b>	8,07

I: Pastoreo, II: Ensilado de maíz III: Ensilado de hierba IV: Ensilado de hierba con forraje seco V: Alto concentrado con ensilado de maíz y ensilado de hierba. D.E.: desviación estándar.

<sup>1</sup> heno de hierba, heno de veza-avena, alfalfa deshidratada, paja, etc.

### 4.3. Descripción de los sistemas de alimentación

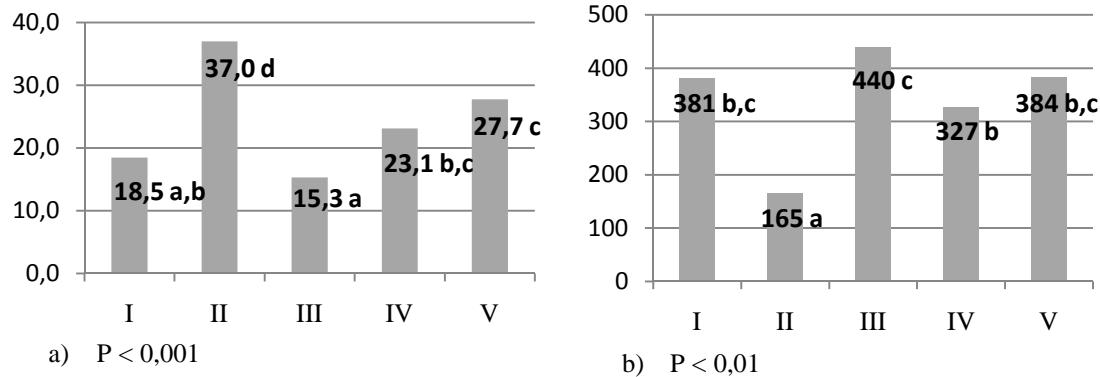
En la figura 4.3 se muestran los porcentajes de forraje (propio y adquirido) y concentrado utilizados en la ración según los sistemas de alimentación descritos anteriormente. La proporción forraje:concentrado fue mayor en el sistema ensilado de hierba (III) (73:27 , P < 0,001), no siendo distinta al sistema ensilado de maíz (II) (71:29, P < 0,001). La menor proporción forraje:concentrado (52:48, P < 0,001) se dio en el sistema con alto concentrado (V). Todos los sistemas producen mayoritariamente los forrajes dentro de la propia explotación, ahora bien, mientras los sistemas I, II, III producen el 68% de la ración en la propia explotación, en forma de forraje, los sistemas IV y V producen solo el 43% del alimento (P < 0,001) como forraje. Si bien, el porcentaje de forraje comprado en el exterior, fue significativamente mayor en el sistema de ensilado de hierba con forraje seco (IV) frente al resto de sistemas (23,3 vs 3,8 %, P < 0,001).



I: Pastoreo, II: Ensilado de maíz III: Ensilado de hierba IV: Ensilado de hierba con forraje seco V: Alto concentrado con ensilado de maíz y ensilado de hierba. Diferencias estadísticas a  $P < 0,001$

Figura 4.3. Porcentaje de forraje y concentrado aportados en la ración, en función del sistema de alimentación.

La figura 4.4.a muestra la producción de leche media por vaca y día en función del sistema de alimentación. Se puede observar que la mayor producción de leche (37,0 L / vaca / día,  $P < 0,001$ ) se dio en el sistema de ensilado de maíz (II), mientras que la menor producción (15,3 L / vaca / día,  $P < 0,001$ ) se dio en el sistema de ensilado de hierba (III) y en el sistema pastoreo (I) (18,5 kg / vaca / día,  $P < 0,05$ ). Los sistemas de ensilado de hierba con forraje seco (IV) y alto concentrado (V) presentaban producciones intermedias (23,1 y 27,7 L / día, respectivamente,  $P < 0,01$ ).



I: Pastoreo, II: Ensilado de maíz III: Ensilado de hierba IV: Ensilado de hierba con forraje seco V: Alto concentrado con ensilado de maíz y ensilado de hierba.

Figura 4.4. Producción de leche (L / vaca / día) (a) y concentrado consumido por litro de leche producida (g / L) (b) en función de cada sistema de alimentación.

La cantidad de concentrado necesario para producir un litro de leche se muestra en la figura 4.4.b. El sistema con ensilado de maíz (II) utilizó más eficazmente el concentrado, siendo menor (165 g / L leche,  $P < 0,05$ ) que para el resto de grupos (383 g / L leche,  $P < 0,01$ ). El sistema pastoreo (I), ensilado de hierba (III) y concentrado (V) fueron los que más concentrado utilizaron por litro de leche (381, 384, 440 g / L leche respectivamente,  $P < 0,01$ ), mientras que el sistema IV necesitaba 327 g de concentrado para producir un litro de leche.

#### 4.4. Análisis de la composición de la leche

En la tabla 4.4. se muestran los resultados de la composición química de la leche según el sistema de alimentación. Se puede observar que el grupo II se diferenció por sus valores más altos en proteína, lactosa, extracto seco magro y urea (3,42, 4,83, 8,98 % y 306 mg / L, respectivamente,  $P < 0,001$ ) siendo el resto de sistemas con valores inferiores (3,1, 4,7, 8,6 % y 249 mg / L, respectivamente,  $P < 0,001$ ). Los sistemas de alto concentrado también presentaron mayor cantidad de lactosa (4,8%,  $P < 0,001$ ) como el grupo II. El grupo de pastoreo (I) tuvo la misma cantidad de grasa, proteína, lactosa y extracto seco magro que el resto de grupos III, IV y V, y fue el grupo con menor cantidad de urea (201 vs 276 mg / L) lo que supone una mejor eficiencia en el uso de la proteína.

Tabla 4.4 Composición química de la leche según los sistemas de alimentación.

	I (n=6)	II (n=4)	III (n=8)	IV (n=18)	V (n=24)	rsd	Significativo
Grasa %	3,88	3,83	3,86	3,73	3,84	0,026	NS
Proteína %	3,10 <sup>a</sup>	3,42 <sup>b</sup>	3,13 <sup>a</sup>	3,11 <sup>a</sup>	3,20 <sup>a</sup>	0,013	***
Lactosa %	4,74 <sup>a</sup>	4,83 <sup>b</sup>	4,72 <sup>a</sup>	4,72 <sup>a</sup>	4,80 <sup>b</sup>	0,009	***
ESM %	8,61 <sup>a</sup>	8,98 <sup>b</sup>	8,58 <sup>a</sup>	8,59 <sup>a</sup>	8,76 <sup>a</sup>	0,022	***
Urea (mg / L)	201 <sup>a</sup>	306 <sup>c</sup>	265 <sup>b</sup>	246 <sup>a,b</sup>	285 <sup>b,c</sup>	5,1	***

I: Pastoreo, II: Ensilado de maíz III: Ensilado de hierba IV: Ensilado de hierba con forraje seco V: Alto concentrado con ensilado de hierba y ensilado de maíz. ESM: extracto seco magro. NS: no significativo a P > 0,05; Diferentes letras dentro de una misma fila implica diferencias significativas a P < 0,001.

La tabla 4.5 muestra la variación de la composición química de la leche según la estación y la tabla 4.6 según la zona geográfica. Durante el verano se observó la menor concentración de grasa (3,71%, P < 0,05) mientras que en invierno fue la mayor (3,91%, P < 0,05). Así mismo, en el verano también se observó la menor proporción de lactosa (4,73%, P < 0,05). La concentración de urea fue menor en primavera que el resto de estaciones (199 vs 285 mg / L, P < 0,001). En la zona Interior Occidental (OI) se observó una mayor proporción de grasa en la leche frente al resto de zonas (3,93 vs 3,76%, P < 0,001) y la menor proporción de lactosa (4,74 vs 4,78%, P < 0,001).

Tabla 4.5. Composición química de la leche según la estación.

	Primavera (n=15)	Verano (n=15)	Otoño (n=15)	Invierno (n=15)	rsd	Significación
Grasa %	3,79 <sup>a,b</sup>	3,71 <sup>a</sup>	3,84 <sup>a,b</sup>	3,91 <sup>b</sup>	0,026	*
Proteína %	3,18	3,15	3,15	3,19	0,013	NS
Lactosa %	4,79 <sup>b</sup>	4,73 <sup>a</sup>	4,75 <sup>a,b</sup>	4,78 <sup>a,b</sup>	0,009	*
ESM %	8,73	8,64	8,64	8,72	0,022	NS
Urea (mg / L)	199 <sup>a</sup>	280 <sup>b</sup>	302 <sup>b</sup>	274 <sup>b</sup>	5,1	***

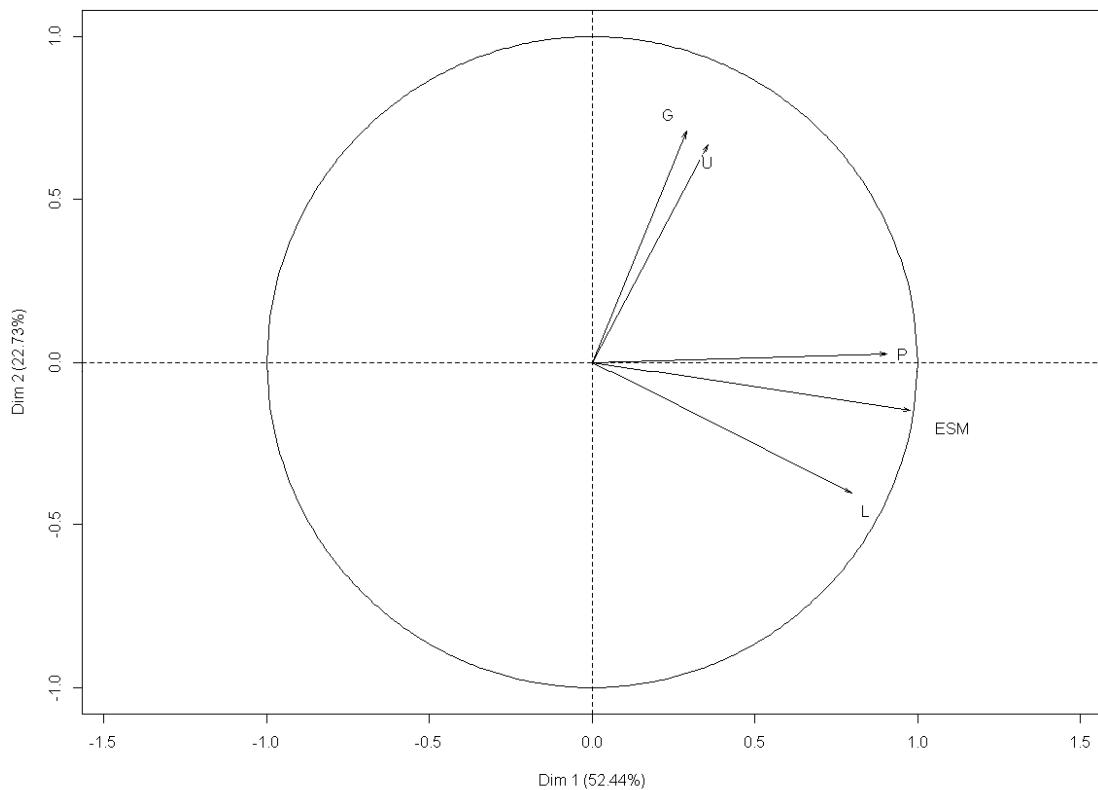
ESM: extracto seco magro. NS: no significativo a P > 0,05; \*: P < 0,05; \*\*\*: P < 0,001. Diferentes letras dentro de una misma fila implica diferencias significativas al nivel indicado.

Tabla 4.6. Composición química de la leche según la zona.

	CC (n=16)	OC (n=24)	OI (n=20)	rsd	Significación
Grasa %	3,79 <sup>a,b</sup>	3,73 <sup>a</sup>	3,93 <sup>b</sup>	0,026	***
Proteína %	3,14	3,17	3,19	0,013	NS
Lactosa %	4,76 <sup>a,b</sup>	4,79 <sup>b</sup>	4,74 <sup>a</sup>	0,009	***
ESM %	8,65	8,7	8,69	0,022	NS
Urea (mg / L)	243	261	284	5,1	NS

CC: centro-costa, OC: occidente-costa, OI: occidente-interior. ESM: extracto seco magro. NS: no significativo a P > 0,05. Diferentes letras dentro de una misma fila implica diferencias significativas a P < 0,001.

El análisis de componentes principales (PCA), sobre la composición química de la leche se muestra en la figura 4.5. La proyección de estas variables sobre los planos definidos por los componentes principales mostró que el extracto seco magro, la proteína y la lactosa tuvieron correlaciones positivas elevadas en el componente uno (0,99, 0,90, 0,80 respectivamente), mientras que la grasa y la urea mostraron elevadas correlaciones en el componente dos (0,71 y 0,67 respectivamente). Las proyecciones sobre el primer componente consiguieron explicar un 52% de la variabilidad total entre grupos y sobre el segundo componente explicó el 23% de la variabilidad entre grupos.

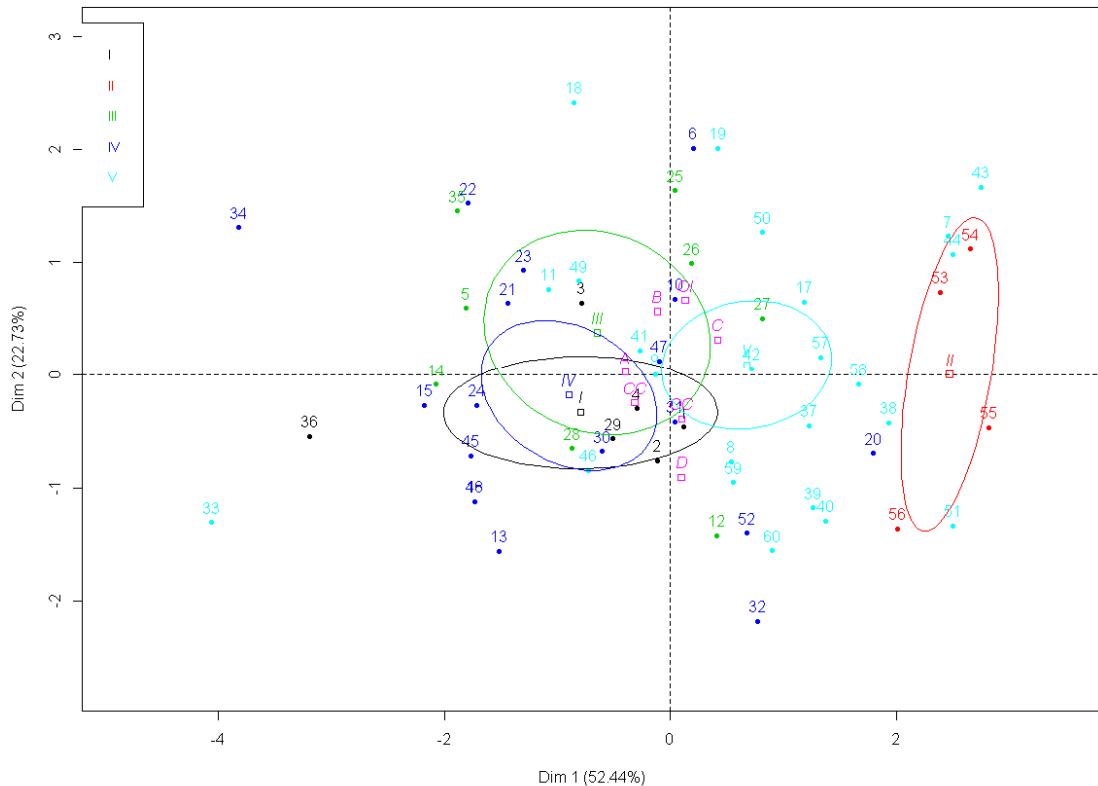


G: grasa, L: lactosa, P: proteína, U: urea; ESM: extracto seco magro.

Figura 4.5. Análisis de componentes principales para la composición química de la leche.

Al graficar los datos normalizados sobre los componentes principales y agruparlos en una elipse, con una confianza del 95%, en función del sistema de alimentación se

observa que el sistema ensilado de maíz (II), se diferencia del resto de grupos (figura 4.6). El grupo V tiene el centroide de sus datos normalizados diferenciado, aunque la elipse que agrupa los datos con un 95% de confianza se solapa parcialmente con los grupos I, III y IV entre los que no existe una diferencia clara.



I: Pastoreo, II: Ensilado de maíz III: Ensilado de hierba IV: Ensilado de hierba con forraje seco V: Alto concentrado con ensilado de hierba y ensilado de maíz.

Figura 4.6. Gráfica de elipses de confianza en función del sistema de alimentación tras el análisis de componentes principales de la composición química de la leche.

El perfil de AG según el sistema de alimentación se muestra en la tabla 4.7. Se puede observar que la leche producida en el sistema II presentó una mayor proporción de palmítico ( $42,88 \text{ g / 100 g de ácidos grasos totales}$ ,  $P < 0,05$ ) que el resto de los sistemas de alimentación, así como de otros ácidos grasos saturados como el C11:0 ( $0,11 \text{ g/100g AG totales}$ ,  $P < 0,05$ ), C12:0 ( $4,12 \text{ g/100g AG totales}$ ,  $P < 0,01$ ) y C13:0 ( $0,18 \text{ g/100g AG totales}$ ,  $P < 0,001$ ). Sin embargo mostró las concentraciones más bajas de ácidos grasos saludables: C18:0 ( $8,97 \text{ g/100g AG totales}$ ,  $P = 0,0771$ ), C18:1 *trans-11*

(0,36 g/100g AG totales,  $P < 0,001$ ), C18:1 *cis-9*, (16,61 g/100g AG totales,  $P < 0,01$ ); C18:2 *cis-9, trans-11* (0,14 g/100g AG totales  $P < 0,001$ ) y  $\alpha$ -linolénico (0,15 g/100 g AG totales,  $P < 0,01$ ). Los perfiles de AG de la leche de los grupos I, III y IV fueron similares entre ellos, mientras que el grupo V mostró concentraciones intermedias y más parecidas a las del grupo II. En general se pudo observar que el total de AG moninsaturados (AGMI) fue inferior para el grupo II frente al resto (21,07 vs 29,94 g / 100 g AG totales,  $P < 0,01$ ) no habiendo diferencias entre sistemas en el total de AG poliinsaturados (AGPI). Con respecto al porcentaje de ácidos grasos totales saturados e insaturados, el grupo II presentó la mayor proporción de saturados frente al resto de grupos (77,1 vs 67,7%,  $P < 0,001$ ). De la misma manera, la relación saturados / insaturados fue mayor para el grupo II respecto al resto (3,75 vs 2,56,  $P < 0,001$ ). Los ácidos grasos que forman el conjunto de omega 3 fue significativamente inferior en el grupo II (0,17 g / 100g AG totales,  $P < 0,01$ ), el mayor porcentaje fue en el sistema III (0,42 g / 100g AG totales,  $P < 0,01$ ); observándose valores intermedios en los sistemas IV, V y I (0,33, 0,23, 0,23 g / 100g AG totales, respectivamente,  $P < 0,01$ ). El ratio Omega-6 / Omega-3 fue elevado en casi todos los sistemas, sobre todo en los sistemas II y V (9,79 y 9,75 g / 100g AG totales, respectivamente,  $P < 0,01$ ), valores intermedios fueron en el I y IV (8,43 y 6,14 g / 100g AG totales, respectivamente,  $P < 0,01$ ) y la menor relación se encontró en el grupo III (4,03 g / 100g AG totales,  $P < 0,01$ ).

El perfil de AG según la estación se muestra en la tabla 4.8. Se pueden observar diferencias en algunos AG. Sin embargo, en el total de AG saturados e insaturados no hay diferencias entre estaciones, si bien los AG omega -3 son menores en invierno debido principalmente a la menor proporción de C18:3 *cis-9, cis-12, cis-15* frente al resto de sistemas (0,18 vs 0,29 g / 100g AG totales,  $P < 0,01$ ).

Con respecto al perfil de AG según la zona geográfica, solo se observaron dos AG con diferencias para la zona centro costera, con las menores proporciones de C16:0 con respecto al resto de grupos (33,12 vs 37,13 g / 100g AG totales,  $P < 0,01$ ) y las mayores proporciones en C18:0 (12,75 vs 10,89 g / 100g AG totales,  $P < 0,05$ ).

Tabla 4.7. Perfil de ácidos grasos de la leche según los sistemas de alimentación

(g/100 g ácidos grasos totales)	Sistemas de alimentación					rsd	Sig.
	I	II	III	IV	V		
C6:0	0,95	1,23	1,00	0,81	0,86	0,037	NS
C7:0	0,01	0,03	n.c.	n.c.	0,01	-	-
C8:0	0,81	0,88	0,80	0,76	0,87	0,013	NS
C9:0	0,02 <sup>a</sup>	0,04 <sup>b</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,002	***
C10:0	2,51	3,02	2,14	2,11	2,57	0,072	NS
C11:0	0,04 <sup>a</sup>	0,11 <sup>b</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a,b</sup>	0,006	*
C12:0	3,21 <sup>a</sup>	4,12 <sup>b</sup>	2,94 <sup>a</sup>	2,91 <sup>a</sup>	3,48 <sup>a,b</sup>	0,082	**
C12:1 trans10	0,08	0,12	0,12	0,08	0,09	0,005	NS
C13:0	0,08 <sup>a</sup>	0,18 <sup>b</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,0002	***
C14:0	12,11	13,53	11,98	11,45	12,48	0,209	NS
C14:1 cis9	1,06	1,19	1,29	1,12	1,09	0,029	NS
C15:0	1,15	1,59	1,17	1,04	1,08	0,034	NS
C16:0	34,47 <sup>a</sup>	42,88 <sup>b</sup>	34,95 <sup>a</sup>	34,36 <sup>a</sup>	36,86 <sup>a</sup>	0,612	*
C16:1 cis9	0,04	0,01	0,03	0,02	0,02	0,005	NS
C16:1 trans9	1,73	2,05	1,83	1,68	1,64	0,045	NS
C17:0	0,53 <sup>b</sup>	0,51 <sup>b</sup>	0,46 <sup>a,b</sup>	0,41 <sup>a,b</sup>	0,37 <sup>a</sup>	0,013	*
C17:1 cis10	0,07 <sup>b</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a,b</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,02 <sup>a</sup>	0,005	*
C18:0	12,32 <sup>b</sup>	8,97 <sup>a</sup>	10,90 <sup>a,b</sup>	12,06 <sup>a,b</sup>	11,21 <sup>b</sup>	0,272	t
C18:1 trans9	0,07	0,05	0,09	0,10	0,10	0,007	NS
C18:1 trans11	1,01 <sup>b,c</sup>	0,36 <sup>a</sup>	1,21 <sup>c</sup>	1,23 <sup>c</sup>	0,70 <sup>a,b</sup>	0,057	***
C18:1 cis9	24,66 <sup>b</sup>	16,61 <sup>a</sup>	26,27 <sup>b</sup>	26,68 <sup>b</sup>	23,37 <sup>b</sup>	0,583	**
C18:1 cis11	0,44	0,57	0,41	0,48	0,48	0,018	NS
C18:2 cis9 cis12	1,76	1,40	1,19	1,68	1,85	0,085	NS
C18:2 cis9 trans11	0,46 <sup>c</sup>	0,14 <sup>a</sup>	0,41 <sup>c</sup>	0,35 <sup>b,c</sup>	0,22 <sup>a,b</sup>	0,018	***
C18:3 cis6 cis9 cis12	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,001	NS
C18:3 cis9 cis12 cis15	0,22 <sup>a,b</sup>	0,15 <sup>a</sup>	0,37 <sup>c</sup>	0,31 <sup>b,c</sup>	0,21 <sup>a,b</sup>	0,013	**
C19:1 cis10	0,14	0,08	0,15	0,05	0,07	0,029	NS
C20:0	0,03	0,03	0,05	0,04	0,04	0,003	NS
C20:1 cis11	0,01	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	-	-
C20:2 cis11 cis14	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	-	-
C20:3 cis 8 cis11 cis14	0,02	0,03	0,02	0,03	0,03	0,002	NS
C20:4 cis5 cis8 cis11 cis14	0,03	0,06	0,04	0,04	0,05	0,003	NS
C20:5 cis5 cis8 cis11 cis14 cis17	0,01 <sup>a</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,02 <sup>b</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,001	***
C22:0	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	-	-
C22:5 cis7 cis10 cis13 cis16 cis19	0,01 <sup>a</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,02 <sup>b</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,001	**
%Saturados	68,2 <sup>a</sup>	77,1 <sup>b</sup>	66,5 <sup>a</sup>	66,0 <sup>a</sup>	70,0 <sup>a</sup>	0,610	***
% Insaturados	31,8 <sup>b</sup>	22,9 <sup>a</sup>	33,5 <sup>b</sup>	33,9 <sup>b</sup>	30,0 <sup>b</sup>	0,610	***
Saturados/ Insaturados	2,24 <sup>a</sup>	3,75 <sup>b</sup>	2,00 <sup>a</sup>	2,00 <sup>a</sup>	2,41 <sup>a</sup>	0,074	***
AGMI	29,31 <sup>b</sup>	21,07 <sup>a</sup>	31,43 <sup>b</sup>	31,45 <sup>b</sup>	27,58 <sup>b</sup>	0,604	**
AGPI	2,52	1,81	2,10	2,46	2,40	0,103	NS
omega-3	0,23 <sup>a,b</sup>	0,17 <sup>a</sup>	0,42 <sup>c</sup>	0,33 <sup>b,c</sup>	0,23 <sup>a,b</sup>	0,018	**
omega-6	1,82	1,50	1,28	1,78	1,96	0,087	NS
omega-6 / omega-3	8,43 <sup>a,b</sup>	9,79 <sup>b</sup>	4,03 <sup>a</sup>	6,14 <sup>a,b</sup>	9,75 <sup>b</sup>	0,496	**

I: Pastoreo, II: Ensilado de maíz III: Ensilado de hierba IV: Ensilado de hierba con forraje seco V: Alto concentrado con ensilado de hierba y ensilado de maíz. NS: no significativo a  $P > 0,05$ , \*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$ ; t: tendencia a  $P = 0,0771$ .

Diferentes letras dentro de una misma fila implica diferencias significativas a los niveles indicados. n.c: detectado no cuantificado.

Tabla 4.8. Perfil de ácidos grasos según la estación

(g/100 g ácidos grasos totales)	Estación					
	Primavera	Verano	Otoño	Invierno	rsd	Sig.
C6:0	0,97 <sup>a</sup>	1,09 <sup>b</sup>	0,87 <sup>a,b</sup>	0,67 <sup>a</sup>	0,037	**
C7:0	0,01	0,01	n.c.	n.c.	-	-
C8:0	0,81	0,81	0,85	0,82	0,013	NS
C9:0	0,02	0,02	0,02	0,00	0,002	NS
C10:0	2,31	2,54	2,41	2,32	0,072	NS
C11:0	0,06	0,04	0,08	0,05	0,006	NS
C12:0	3,19	3,28	3,37	3,16	0,082	NS
C12:1 trans10	0,09 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,13 <sup>b</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,005	**
C13:0	0,10 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,13 <sup>b</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,0002	**
C14:0	11,41	12,55	12,88	11,70	0,209	NS
C14:1 cis9	1,13	1,02	1,24	1,11	0,029	NS
C15:0	1,11	1,14	1,17	1,06	0,034	NS
C16:0	34,12	35,56	35,96	38,43	0,612	NS
C16:1 cis9	0,04	0,04	0,02	0,00	0,005	NS
C16:1 trans9	1,80 <sup>a,b</sup>	1,53 <sup>a</sup>	1,93 <sup>b</sup>	1,59 <sup>a</sup>	0,045	**
C17:0	0,48 <sup>b</sup>	0,45 <sup>b</sup>	0,41 <sup>a,b</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,013	*
C17:1 cis10	0,00	0,11	0,00	0,00	0,005	NS
C18:0	11,52	12,17	10,45	11,40	0,272	NS
C18:1 trans9	0,10	0,07	0,10	0,09	0,007	NS
C18:1 trans11	1,09	1,02	0,88	0,76	0,057	NS
C18:1 cis9	26,26	23,31	24,16	23,98	0,583	NS
C18:1 cis11	0,51 <sup>b</sup>	0,42 <sup>a</sup>	0,56 <sup>b</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,018	**
C18:2 cis9 cis12	2,04 <sup>b</sup>	1,87 <sup>a,b</sup>	1,36 <sup>a</sup>	1,44 <sup>a</sup>	0,085	*
C18:2 cis9 trans11	0,38 <sup>b</sup>	0,36 <sup>b</sup>	0,25 <sup>a</sup>	0,22 <sup>a</sup>	0,018	*
C18:3 cis6 cis9 cis12	0,02 <sup>b,c</sup>	0,02 <sup>a,b</sup>	0,03 <sup>c</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,001	**
C18:3 cis9 cis12 cis15	0,27 <sup>a,b</sup>	0,24 <sup>a,b</sup>	0,35 <sup>b</sup>	0,18 <sup>a</sup>	0,013	**
C19:1 cis10	n.c.	0,06	0,27	0,00	-	-
C20:0	0,04 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,06 <sup>b</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,003	**
C20:1 cis11	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	-	-
C20:2 cis11 cis14	n.c.	n.c.	0,01	n.c.	-	-
C20:3 cis 8 cis11 cis14	0,03	0,02	0,03	0,02	0,002	NS
C20:4 cis5 cis8 cis11 cis14	0,05 <sup>b</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,06 <sup>b</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,003	*
C20:5 cis5 cis8 cis11 cis14 cis17	0,02 <sup>b</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,02 <sup>b</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,001	**
C22:0	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	-	-
C22:5 cis7 cis10 cis13 cis16 cis19	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001	NS
%Saturados	66,14	69,79	68,67	70,09	0,610	NS
% Insaturados	33,86	30,21	31,40	29,91	0,610	NS
Saturados/ Insaturados	1,98	2,47	2,35	2,42	0,074	NS
AGMI	31,04	27,65	29,30	28,00	0,604	NS
AGPI	2,82	2,56	2,11	1,92	0,103	NS
omega-3	0,30 <sup>b</sup>	0,25 <sup>a,b</sup>	0,37 <sup>b</sup>	0,19 <sup>a</sup>	0,018	**
omega-6	2,14 <sup>b</sup>	1,95 <sup>a,b</sup>	1,48 <sup>a</sup>	1,51 <sup>a</sup>	0,087	*
omega-6 / omega-3	8,50 <sup>b</sup>	8,78 <sup>a,b</sup>	5,06 <sup>a</sup>	8,77 <sup>b</sup>	0,496	*

NS: no significativo a P > 0,05, \*: P < 0,05; \*\*: P < 0,01; \*\*\*: P < 0,001. Diferentes letras dentro de una misma fila implica diferencias significativas a los niveles indicados. n.c: detectado no cuantificado.

Tabla 4.9. Perfil de ácidos grasos de la leche según la zona geográfica

(g/100 g ácidos grasos totales)	Zonas geográficas				
	CC	OC	OI	rsd	Significación
C6:0	0,94	0,92	0,84	0,037	NS
C7:0	0,01	0,01	n.c.	-	-
C8:0	0,83	0,81	0,83	0,013	NS
C9:0	0,01	0,02	0,01	0,002	NS
C10:0	2,54	2,33	2,36	0,072	NS
C11:0	0,05	0,07	0,05	0,006	NS
C12:0	3,33	3,22	3,22	0,082	NS
C12:1 trans10	0,09	0,10	0,09	0,005	NS
C13:0	0,10	0,12	0,09	0,0002	NS
C14:0	12,35	12,12	11,99	0,209	NS
C14:1 cis9	1,03	1,18	1,14	0,029	NS
C15:0	1,13	1,16	1,07	0,034	NS
C16:0	33,12 <sup>a</sup>	36,49 <sup>b</sup>	37,76 <sup>b</sup>	0,612	**
C16:1 cis9	0,02	0,02	0,03	0,005	NS
C16:1 trans9	1,60	1,82	1,68	0,045	NS
C17:0	0,46	0,41	0,41	0,013	NS
C17:1 cis10	0,03	0,04	0,01	0,005	NS
C18:0	12,75 <sup>b</sup>	10,94 <sup>a</sup>	10,83 <sup>a</sup>	0,272	*
C18:1 trans9	0,10	0,10	0,07	0,007	NS
C18:1 trans11	0,91	0,96	0,92	0,057	NS
C18:1 cis9	25,47	24,25	23,81	0,583	NS
C18:1 cis11	0,53	0,51	0,39	0,018	NS
C18:2 cis9 cis12	1,85	1,60	1,62	0,085	NS
C18:2 cis9 trans11	0,29	0,29	0,32	0,018	NS
C18:3 cis6 cis9 cis12	0,02	0,02	0,02	0,001	NS
C18:3 cis9 cis12 cis15	0,20	0,27	0,29	0,013	NS
C19:1 cis10	0,15	0,11	n.c.	-	-
C20:0	0,04	0,04	0,04	0,003	NS
C20:1 cis11	n.c.	n.c.	n.c.	-	-
C20:2 cis11 cis14	n.c.	n.c.	n.c.	-	-
C20:3 cis 8 cis11 cis14	0,03	0,03	0,03	0,002	NS
C20:4 cis5 cis8 cis11 cis14	0,05	0,05	0,04	0,003	NS
C20:5 cis5 cis8 cis11 cis14 cis17	0,01	0,01	0,01	0,001	NS
C22:0	n.c.	n.c.	n.c.	-	-
C22:5 cis7 cis10 cis13 cis16 cis19	0,01	0,01	0,01	0,001	NS
% Saturados	67,65	68,65	69,51	0,610	NS
% Insaturados	32,38	31,38	30,49	0,610	NS
Saturados/ Insaturados	2,23	2,34	2,32	0,074	NS
AGMI	29,92	29,09	28,15	0,604	NS
AGPI	2,45	2,29	2,34	0,103	NS
omega-3	0,22	0,30	0,31	0,018	NS
omega-6	1,95	1,70	1,71	0,087	NS
omega-6 / omega-3	9,89	7,27	6,70	0,496	NS

CC: centro-costa, OC: occidente costa, OI: occidente-interior. NS: no significativo a P > 0,05, \*: P < 0,05; \*\*: P < 0,01. Diferentes letras dentro de una misma fila implica diferencias significativas a los niveles indicados. n.c: detectado no cuantificado.

En el análisis cromatográfico de 35 AG para la realización de los análisis (PCA) se identificaron AG cuya concentración era muy baja y solo aparecían trazas. Por lo tanto, el PCA fue realizado sobre 25 AG que se cuantificaron en todas las muestras (figura 4.7.). Con este análisis se puede explicar el 54% de la variabilidad observada entre grupos a través de tres componentes principales (figura 4.7). Además al proyectar los AG sobre el componente uno y dos (50% de la varianza) se observó una gran correlación en ambos componentes y en la misma dirección para el C18:0, el C18:1, *cis*-9 y el C18:1 *trans*-11. En el cuadrante opuesto a estos tres AG, se observó que el C12:0, C14:0 en el componente uno (32% de la varianza) y el C16:0 en el componente dos (18% de la varianza) tuvieron una alta correlación inversa.

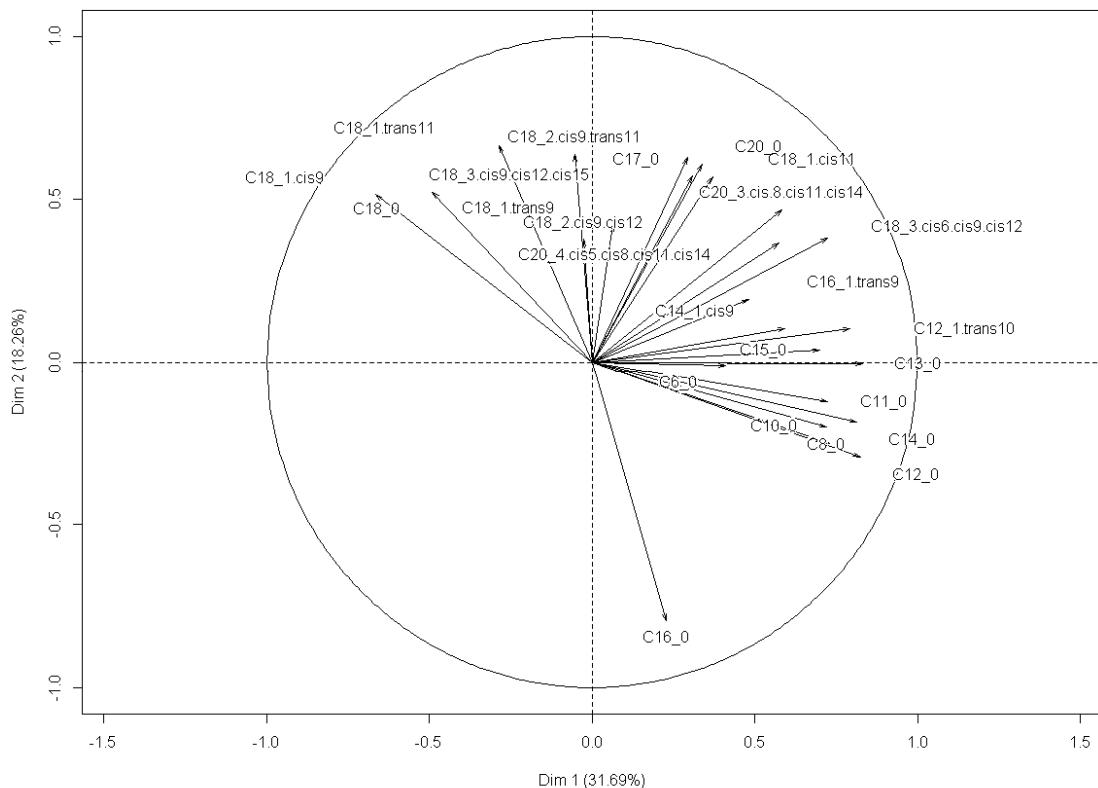
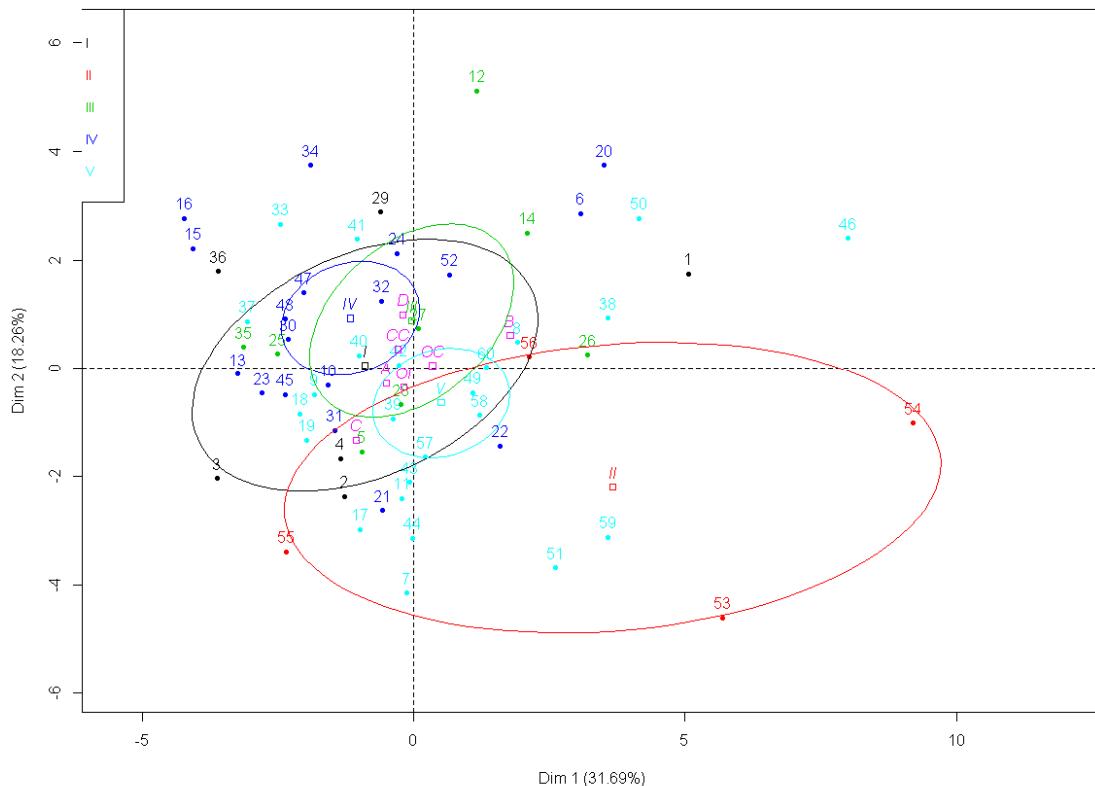


Figura 4.7. Análisis de componentes principales del total de ácidos grasos analizados y cuantificados.

En la figura 4.8 se muestran los datos normalizados agrupados con un intervalo de confianza del 95% sobre los componentes principales en función del sistema de alimentación. El grupo II se diferencia del resto de sistemas de alimentación. Sin

embargo, dentro de su intervalo de confianza incluye el centroide del grupo V. La proyección de los datos de los grupos III, IV y V se sitúa en el interior de la elipse de confianza del grupo I, lo que confirma la similitud de resultados en el perfil de AG de estos sistemas.



I: Pastoreo, II: Ensilado de maíz III: Ensilado de hierba IV: Ensilado de hierba con forraje seco V: Alto concentrado con ensilado de hierba y ensilado de maíz.

Figura 4.8. Gráfica de elipses de confianza en función del sistema de alimentación tras el análisis de componentes principales del perfil de ácidos grasos de la leche.

En las muestras de leche la mayor o menor predominancia de unos ácidos grasos u otros, genera una base de datos muy dispersos que pueden estar afectando al resultado del análisis de componentes principales. Es por ello que se dividió la base de datos en AG mayoritarios y AG minoritarios repitiéndose los análisis con el fin de aumentar la variabilidad explicada por las variables entre grupos.

Los AG considerados mayoritarios fueron: C6:0, C10:0, C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C16:1 *trans*-9, C18:0, C18:1 *cis*-9, C18:2 *cis*-9, *cis*-12 (figura 4.9). Este análisis estableció una alta correlación en casi todos los AG debida al sistema de alimentación explicado por el componente uno ( $P < 0,001$ ). El C16:0 explicó el 79% de la variabilidad entre grupos, teniendo una correlación inversa con el C18:0 (65% de la varianza) y el C18:1, *cis*-9 (59% de la varianza). También se observó que el C16:0 no tuvo relación con el C6:0 y C10:0 (64% de la varianza); el C15:0 (59% de la varianza) y el C14:0 (45% de la varianza) estando todos estos más relacionados entre ellos.

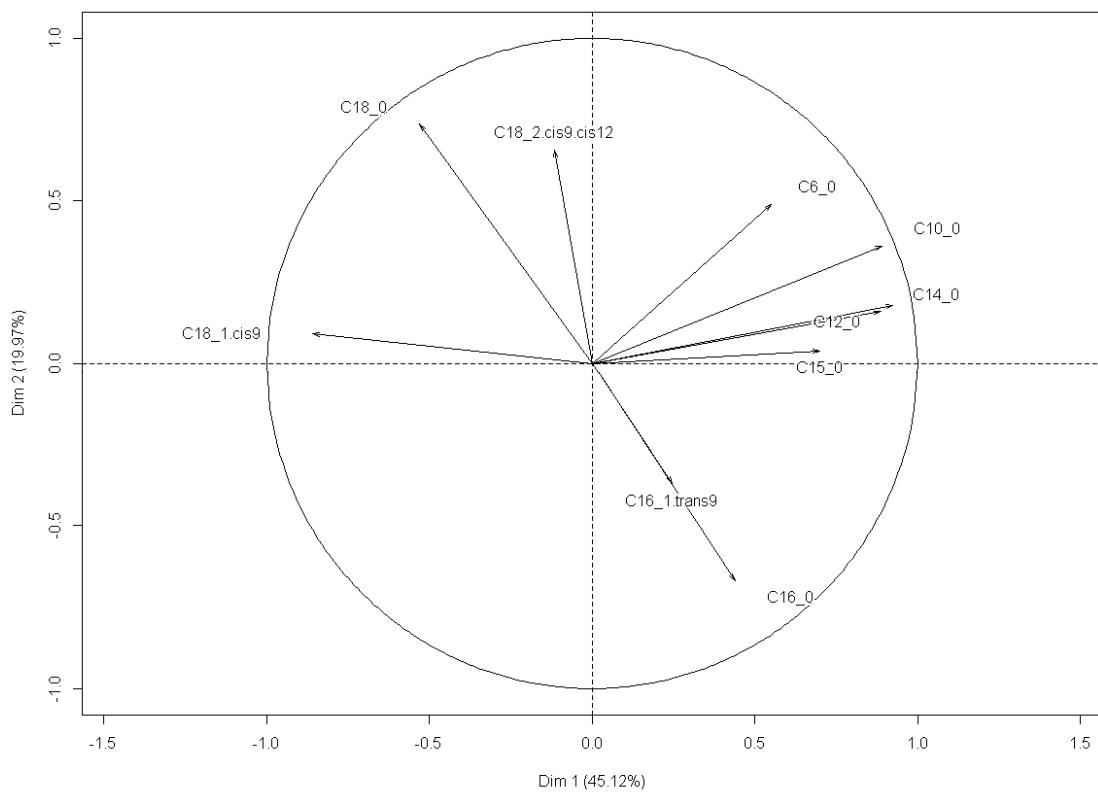
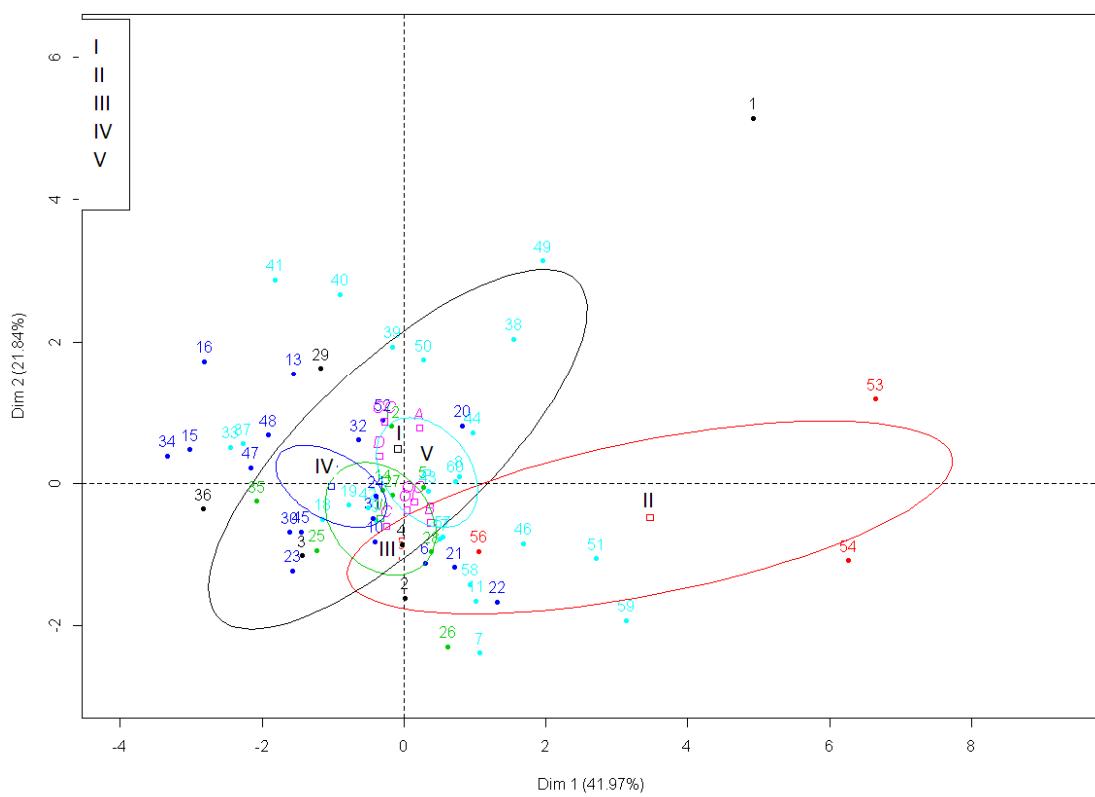


Figura 4.9. Análisis de componentes principales de ácidos grasos mayoritarios.

Al graficar estos datos normalizados sobre los componentes principales y agruparlos en una elipse (con una confianza del 95%) en función del sistema de alimentación podemos decir que el sistema con más ensilado de maíz (II) era claramente distinto al resto de grupos por ello se alejaba más del origen de los ejes (figura 4.9).



I: Pastoreo, II: Ensilado de maíz III: Ensilado de hierba IV: Ensilado de hierba con forraje seco V: Alto concentrado con ensilado de hierba y ensilado de maíz.

Figura 4.9. Gráfica de elipses de confianza en función del sistema de alimentación tras el análisis de componentes principales de los ácidos grasos mayoritarios de la leche.

Los AG considerados minoritarios fueron: C8:0, C11:0, C12:1 *trans-10*, C13:0, C14:1 *cis-9*, C17:0, C18:1 *trans-9*, C18:1 *cis-11*, C18:2 *cis-9, trans-11*, C18:3 *cis-6, cis-9, cis-12*, C18:3*cis-9, cis-12, cis-15*, C20:0, C20:3 *cis-8, cis-11, cis-14*, C20:4 *cis-5, cis-8, cis-11, cis-14* (figura 4.10). Este análisis estableció correlaciones entre todos los AG debidas al factor estación explicado por el componente uno y debidas a los sistemas de alimentación en base al componente dos ( $P < 0,001$ ). El C18:3 *cis-9, cis-12, cis-15*, explicó el 56% de la variabilidad entre grupos al proyectarlo en los componentes uno y dos, sin relación a este se encontraron el C20:3 *cis-8, cis-11, cis-14* y el C18:1, *cis-11* que a su vez explicaron el 47% de la variabilidad entre grupos al proyectarlos en el componente uno y tres. El componente uno explicó gran parte de las correlaciones

observadas (36% de la varianza). La proyección de C17:0, C18:1 *trans-11*, C18:2 *cis-9, trans-11* y en el componente dos explicó una baja variabilidad entre grupos (19%).

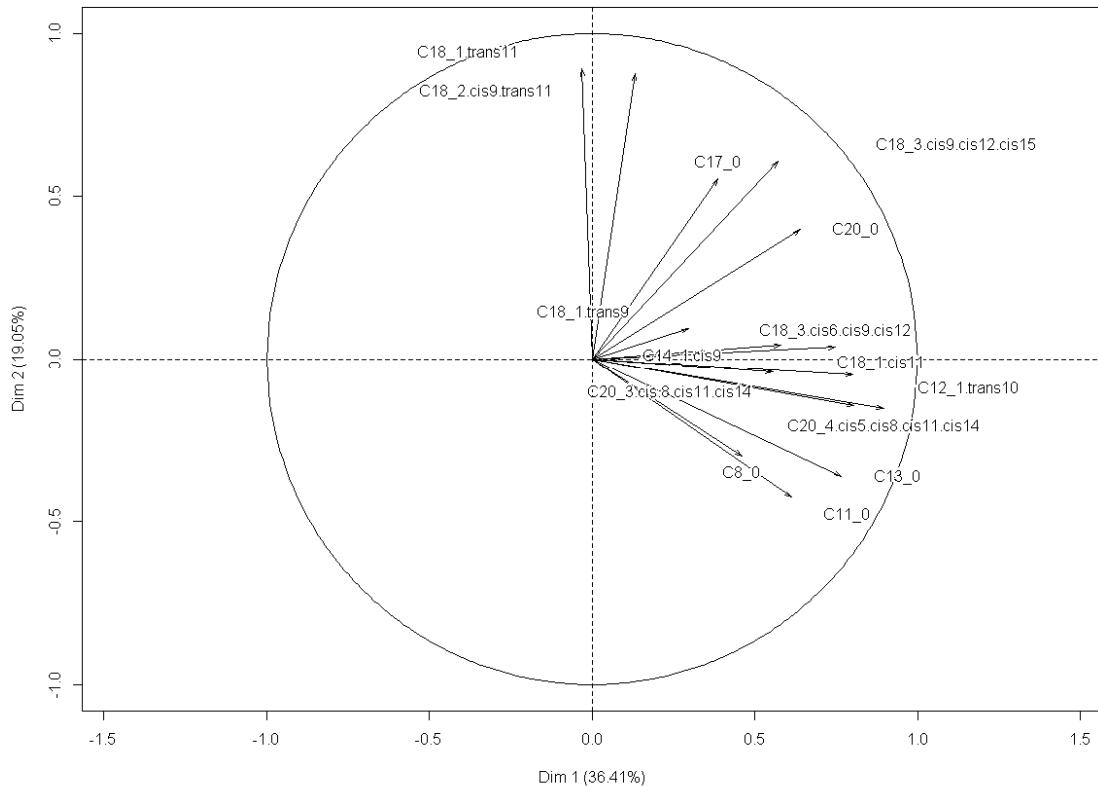
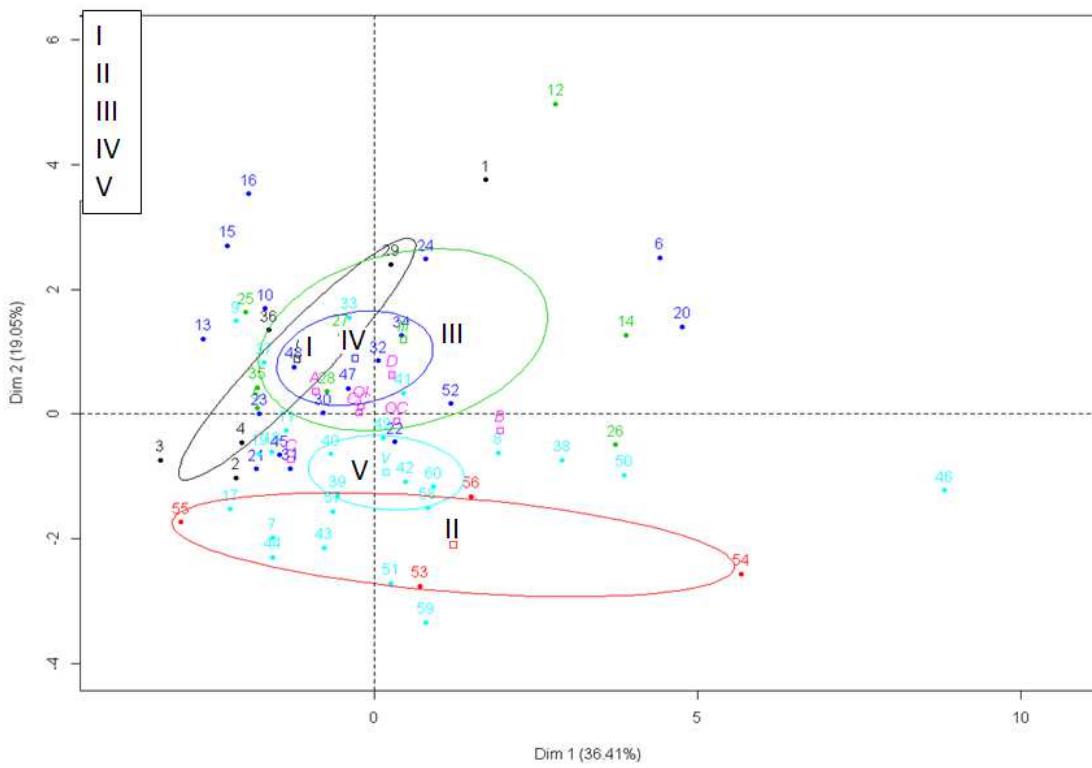


Figura 4.10. Análisis de componentes principales de los ácidos grasos minoritarios.

Al graficar estos datos normalizados sobre los componentes principales y agruparlos en una elipse (con una confianza del 95%) en función del sistema de alimentación, podemos decir que el sistema con más ensilado de maíz (II) volvió a ser el más distinto del resto de grupos (figura 4.11). Esta proyección confirma los resultados del ANOVA ya que este grupo II, se diferenció por una baja cantidad de C18:3 *cis-9, cis-12, cis-15* y C18:1 *trans-11* (0,15 y 0,36 g / 100 g de AG totales respectivamente, P < 0,01) además de una alta cantidad de C11:0 y C13:0 (0,11 y 0,18 g / 100 g de AG totales, respectivamente y P < 0,05) los cuales podrían explicar un 36% de la varianza. El grupo V se desplazó ligeramente hacia el grupo II por tener bajas concentraciones en general de AG minoritarios y en particular de C18:1 *trans-11*, C18:2 *cis-9* y *trans-11* y C18:3 *cis-9, cis-12, cis-15* (0,7, 0,22 y 0,21 g / 100 g de AG totales, respectivamente, P < 0,01). Por otro lado el grupo III y el IV se desplazaron ligeramente hacia el C18:3 *cis-*

9, *cis*-12, *cis*-15, y presentaron las mayores cantidades para este y también para el C18:1 *trans*-11 (0,34 y 1,22 g / 100 g de AG totales respectivamente, P < 0,01). El C18:2 *cis*-9, *trans*-11 también fue alto en los grupos III y IV (0,38 g / 100 g de AG totales, P < 0,001) siendo mayor en el grupo de pastoreo (I) (0,46 g / 100 g de AG totales, P < 0,001).



I: Pastoreo, II: Ensilado de maíz III: Ensilado de hierba IV: Ensilado de hierba con forraje seco V: Alto concentrado con ensilado de hierba y ensilado de maíz.

Figura 4.11. Gráfica de elipses de confianza en función del sistema de alimentación tras el análisis de componentes principales de los ácidos grasos minoritarios de la leche.

## **5. DISCUSIÓN**



## **5. Discusión**

El primer criterio de clasificación de las ganaderías en base al uso de pastoreo y al porcentaje de superficie agraria destinada al cultivo de maíz, fue preestablecido antes de realizar el seguimiento real en las mismas. Para ello, se utilizó una encuesta general previa realizada sobre el 2% del total de explotaciones con cuota asignada, debido a la importancia que tiene el ensilado de maíz en las ganaderías de leche de la Cornisa Cantábrica coincidiendo con otros estudios (Servicios Técnicos de Central Lechera Asturiana, 2012). Evidentemente, esta clasificación de las explotaciones, no tiene en cuenta las variaciones en la alimentación a lo largo del año, ya que, no es habitual que las ganaderías mantenga a lo largo de todo el año una misma ración. Concretamente en nuestro caso, solo dos ganaderías mantuvieron a lo largo del estudio los mismos ingredientes aunque variaron sus proporciones entre muestreros. Por ello, el análisis de cluster permitió el estudio de las ganaderías teniendo en cuenta la variación de los ingredientes que componían la dieta en cada muestrero. De esta forma, se realizó la descripción de las raciones efectivamente usadas, planteándose así distintas posibilidades para establecer los clusters que definían los sistemas de alimentación. Se vio que conforme aumentaba el número de clusters, la similitud entre los componentes de cada uno era mayor. Sin embargo, el análisis posterior de estos sobre la composición de la leche no aportó diferencias al comparar los clusters que se formaban al cortar a la altura de cinco cluster o a la altura en la que se formaban siete. Puesto que, los subgrupos IVa, IVb y Va y Vb eran similares entre sí, porque la proporción de forraje seco en el IV y de ensilado de maíz en el V, no aportaban información adicional. Por este motivo se eligió la altura en la que se formaban cinco cluster para diferenciar los sistemas de alimentación.

El análisis de los resultados según el criterio de clasificación de pastoreo y superficie dedicada a maíz o según el criterio de alimentación, es completamente diferente. Así pues, en base al primer criterio, los sistemas clasificados como de pastoreo (P) eran los que compraban más alimentos, en forma de forraje (16%, tabla 4.1). Sin embargo, en base al segundo criterio (figura 4.3) los clasificados en el grupo I (pastoreo) eran el sistema que más ahorraba en la compra de forrajes (1,2% figura 4.3), dando a su vez una cantidad apreciable de ensilado de maíz en la ración (23%, tabla 4.2). Además este segundo criterio permitió identificar dos grupos más (el IV y el V, tabla 4.2), puesto que estos daban una notable cantidad de forraje seco (23%, tabla 4.2) y de concentrado

(48%, tabla 4.2) en la ración respectivamente. Debido a esto, el grupo IV fue el sistema que más forrajes compraba ya que todos los forrajes secos provenían del exterior de la explotación.

A pesar de los diferentes criterios de clasificación de las ganaderías, al estudiar los resultados de producción de leche y cantidad de concentrado para producir un litro de leche, se constató que tanto las ganaderías asociadas a la mayor superficie de cultivo de maíz (SM) como las clasificadas como ensilado de maíz (II), presentaban la mayor producción de leche y la mayor eficiencia del uso de concentrado frente al resto de sistemas (34,0 L / vaca / día y 260 g de concentrado / L, Figura 4.1 y 37 L / vaca / día y 165 g de concentrado / L, figura 4.4). Esto confirma la importancia del cultivo de maíz y su aprovechamiento como ensilado en la producción de leche de la Cornisa Cantábrica, ya que el maíz por su elevada producción y su contenido en almidón constituye un forraje irremplazable como cultivo de verano en las condiciones del norte de España (Martínez- Fernández et al., 2014). A pesar de obtener producciones significativamente más bajas en el resto de sistemas de alimentación, se pueden alcanzar niveles de rentabilidad aceptables o incluso mayores en sistemas basados en pastos y recursos herbáceos (Ineichen et al., 2014) como en los clusters I, III IV y V, basándose en un correcto uso de los recursos existentes en la propia explotación y un importante descenso de los costes de producción, derivado de un menor gasto de la compra de semillas, utilaje, gestión de purines, etc. que se producen en los sistemas menos intensificados.

Respecto a la composición química de la leche en los cinco sistemas de alimentación que se han caracterizado, los resultados muestran variaciones en la cantidad de proteína, lactosa, extracto seco magro y urea sin diferencias en la grasa (tabla 4.4). Por el contrario algunos autores han encontrado aumentos significativos en el porcentaje de grasa en leche de vacas estabuladas frente a vacas en pastoreo, como por ejemplo Morales-Almaraz et al. (2011) y Capuano et al. (2014), pero lo contrario también ha sido reportado por Slots et al. (2009) quienes encontraron una mayor concentración de grasa en la leche en ganaderías extensivas que en ganaderías intensivas. Si bien, hay que tener en cuenta que, en el trabajo de estos autores, puede existir un efecto raza, ya que mientras que en las ganaderías intensivas eran de raza Holstein, en las extensivas eran rebaños con animales cruzados Holstein-Jersey. Las mayores cantidades en proteína, lactosa, extracto seco magro y urea se asocian al sistema ensilado de maíz (II). El

aumento en la proporción de lactosa se ha relacionado con aumentos en la energía aportada en la dieta (Argamentería et al., 2006). La proteína y la urea, también pueden aumentar por un elevado aporte de energía y proteína en la dieta (Vicente, 2002). Por consiguiente siendo el sistema con mayor producción de leche, también serán las ganaderías con los mayores aportes de energía y proteína. Por otro lado, el sistema de pastoreo (I) puede tener una mayor eficiencia en la utilización de la proteína, por sus menores cantidades de urea en la leche.

Las variaciones encontradas en la composición química de la leche entre estaciones se deben a una respuesta fisiológica relacionada con el aumento de temperatura en verano, lo que disminuyó el porcentaje de grasa y lactosa, aunque también podrían ser debidas a mayores ingestiones de hierba debido a su mayor disponibilidad a principios de verano (Morales-Almaraz et al., 2010; Martínez-Fernández et al., 2014). Respecto a la mayor proporción de grasa y menor lactosa encontrada en la zona oriente interior (tabla 4.6), la causa podría ser la dieta. Esta zona de interior, montañosa y con fuerte pendiente puede presentar importantes variaciones en la producción y composición de forrajes respecto a la zona costera, aunque una vez revisadas en detalle las raciones, no se encontró una explicación consistente a estas diferencias.

Con respecto al perfil de ácidos grasos se encontraron variaciones debidas a los sistemas de alimentación y fueron bien definidas para el sistema ensilado de maíz (II). Para este sistema se encontraron las mayores cantidades en C16:0 y C12:0, bien conocida su relación con la salud humana produciendo mayores concentraciones en plasma de colesterol y lipoproteínas de baja densidad (LDL) que tienen efectos aterogénicos (Shingfield et al., 2008). También se encontraron en este sistema otros ácidos grasos saturados, y las menores proporciones en C18:0, C18:1 *trans-11*, C18:1 *cis-9* y  $\alpha$ -linolénico, dando como resultado el ratio más alto de saturados: insaturados, la menor cantidad de  $\omega$ -3 y un alto ratio  $\omega$ -6:  $\omega$ -3, contribuyendo todo ello a un peor perfil de ácidos grasos para la salud humana en este sistema, como han descrito algunos autores (Álvarez Nogal et al., 2004).

El sistema de alto concentrado (V), presentó bajas concentraciones de ácido ruménico, vaccénico y altas de oleico como han descrito otros autores (Mackie et al., 1998; Griinari y Bauman, 2006). El perfil de ácidos grasos de este sistema es similar al sistema II y por tanto se corresponde con un perfil de ácidos grasos menos beneficioso

para la salud. El aumento de los AG saturados en leche, como el palmítico, puede ser debida a su mayor ingestión, puesto que aproximadamente el 50% del palmítico de la leche proviene de la dieta o de las reservas corporales (Bauman y Griinari, 2001) siendo la otra mitad del palmítico vía síntesis *de novo*. Puesto que el forraje provee de precursores de AGI, como el acetato (Bargo et al., 2002), una menor proporción de forraje: concentrado puede estar produciendo este perfil más saturado y la falta de ácidos grasos de cadena corta y media para la síntesis de AGI como parece ocurrir en sistema alto concentrado (V) (52% de forraje). Este hecho también podría darse en el sistema ensilado de maíz (II) ya que puede considerarse que el ensilado de maíz como un ingrediente que proporciona un 30% de concentrado y un 70% de forraje (de la Roza et al., 2012) por su contenido en almidón y pared celular. Teniendo en cuenta este comportamiento del ensilado de maíz, el porcentaje efectivo de forraje aportado en este sistema se reduciría de un 71% a un 50% que lo asimilaría al sistema V.

En el resto de sistemas de alimentación (I, III y IV) que aportan forraje fresco en la ración, presentaron concentraciones intermedias de los AGI beneficiosos para la salud, siendo elevados el ácido oleico, el vaccénico, el ruménico, así como el C18:0 en los tres sistemas, con disminuciones importantes en el ratio saturados: insaturados y en el ratio  $\omega$ -6:  $\omega$ -3. Puesto que el forraje fresco presenta un porcentaje elevado de linolénico (el 0,5 - 0,75 del total de AG según Nielsen et al., 2006); el consumo de este puede haber producido un mayor aporte de ácido linolénico al rumen, que después de reacciones de isomerización y reducción por la flora ruminal, conduce a una mayor proporción de vaccénico en la leche, como efectivamente se observa en nuestro estudio, donde estos tres sistemas tienen una concentración de 1,15 g /100g AG totales frente a los 0,53 g /100 g AG totales en los sistemas II y V que no aportaban forraje verde en la ración. Un mayor aporte de linoleico en la ración, que se isomeriza a ruménico como primer paso de la biohidrogenación (Harfoot y Hazlewood, 1988) y seguidamente se reduce a vaccénico, puede incrementar su concentración al pasar directamente a la leche. El 75 % del vaccénico puede pasar a ruménico en la ubre mediante la  $\Delta^9$ -desaturasa (Chilliard et al., 2001). Debido a las vías descritas se dan altos valores de vaccénico en el sistema pastoreo (I) manteniendo una relación con el ruménico entre 2 y 2,5, como indican algunos autores (Elgersma et al., 2006). Las mayores cantidades de  $\alpha$ -linolénico se encontraron en el sistema ensilado de hierba (III) ello puede ser debido a

que el ensilado de hierba tiene mayor contenido en ácido linolénico del 0,85% al 0,96% MS que pasa directamente a la leche (Nielsen et al., 2006).

Se han descrito en Dinamarca (Larsen et al., 2014), descensos en las concentraciones de C14:0, C16:0 y aumentos de C18:0 y oleico en verano, sin embargo en el presente estudio no se encontraron estas diferencias. Las menores proporciones de  $\alpha$ -linolénico se produjeron en invierno como se ha descrito en otros estudios en Polonia (Rutkowska et al., 2014) y en Países Bajos (Kahnal, 2004). También se apreció una tendencia al aumento de ruménico en primavera como se ha visto en algunos estudios en Reino Unido (Butler et al., 2008). Estas diferencias pueden ser debidas a la diferente disponibilidad de forraje verde a lo largo del año (Martínez-Fernández et al., 2014). Las diferencias en el perfil de ácidos grasos para la región centro costera, fue debida a la dieta aportada a las vacas, ya que el muestreo realizado en esta zona concentró mayoritariamente a ganaderías que se clasificaron en sistema de pastoreo (I) y de alto concentrado (V) lo que produjo una disminución en C16:0 y aumentos en C18:0.

Los análisis de componentes principales diferenciaron el sistema de alimentación II, tanto a partir de la composición química de la leche (figura 4.6) como a partir del perfil de AG (figura 4.8). Se encontraron similitudes con otros estudios, como una correlación negativa entre C14:0 y C16:0 con el oleico y el C18:0 (Larsen et al., 2014) poniendo en evidencia que las correlaciones que presentaron estos ácidos grasos permitieron definir el grupo de ensilado de maíz. Sin embargo, con el resto de sistemas de alimentación no se pudieron establecer las diferencias de forma clara a través del análisis de componentes principales debido a su similitud en AG.



## **6. CONCLUSIONES**



## **6. Conclusiones**

A partir de los resultados del presente trabajo se puede concluir que:

1. Existen cinco sistemas de alimentación en las explotaciones lecheras de Asturias, definidas en función de la composición de ingredientes de la ración. Los sistemas de alimentación identificados son: I) Pastoreo, II) Ensilado de maíz, III) Ensilado de hierba, IV) Forraje seco y V) Alto concentrado.
2. La cantidad de alimentos comprados en las explotaciones está ligada al porcentaje de forraje verde y de ensilado de maíz en la ración. Los sistemas donde el ensilado de maíz es el ingrediente principal, junto con el de forraje fresco, fueron los que adquirieron menos forraje fuera de la explotación.
3. La eficiencia del uso de concentrado para producir leche es mayor en el sistema que aporta mayor porcentaje de ensilado de maíz en la ración. Así mismo, este sistema es el de mayor producción lechera, mientras que el sistema ensilado de hierba presentó la menor producción de leche por vaca.
4. Se encontraron las mayores concentraciones de proteína, lactosa, extractos seco magro y urea en el sistema de ensilado de maíz (II), mientras que el sistema de pastoreo (I) produjo la leche con menor concentración de urea. No se encontraron diferencias en el porcentaje de grasa entre los distintos sistemas de alimentación, aunque sí en lo referente al perfil de ácidos grasos. El sistema de ensilado de maíz presentó el perfil de ácidos grasos menos saludable con las mayores proporciones de ácidos grasos saturados y menores de esteárico, vaccénico, oleico y  $\alpha$ -linolénico, mientras que los sistemas pastoreo (I), ensilado de hierba (III) y forraje seco (IV) presentaron las mayores concentraciones de ruménico, vaccénico, oleico,  $\alpha$ -linolénico y esteárico.



## **4. BIBLIOGRAFÍA**



## **Referencias bibliográficas**

- Álvarez, A., del Corral, J., Solís, D., Pérez, J.A. 2008. Does intensification improve the economic efficiency of dairy farms? *J. Dairy Sci.* 91:3693–3698.
- Álvarez Nogal, P.J. 2004. Modificación del perfil de ácidos grasos de la leche de vaca. *Ganadería*: 27-60.
- AOAC, 1984. Official Methods for Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 14th edition. Arlington, VA, 1141 pp.
- Arango J., Fernández B. 2011. Tablero de gestión de la explotación lechera. Siero, (España). 18-23 pp.
- Argamentería, A., Vicente, F., Martínez-Fernández, A., Cueto, M.A., Roza-Delgado, B. 2006. Influence of partial total mixed rations amount on the grass voluntary intake by dairy cows. *Grassland Science in Europe*. 11: 161-163.
- Aschanffenburg, R. 1968. Preparation of alpha-lactoalbumin from cows or goats milk: a method improving the yield. *J. Dairy Sci.* 51: 1295-1296.
- Auldist, M.J., Walsh, B.j., thomsom, n.A. 1998. Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. *J. Dairy Res.* 65: 401-411.
- Bargo, F., Muller, L.D., Delahoy, J.E., Cassidy, T.W. 2002 Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 85: 2948-2963.
- Bargo, F., Delahoy, J.E., Schroeder, G.F., Baumgard, L.H., Muller, L.D. 2006. Supplementing total mixed rations with pasture increase the content of conjugates linoleic acid in milk. *Anim. Feed Sci. Tech.* 131: 226-240.
- Bauman, D.E., Griinari, J.M. 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci.* 70: 15-29.
- 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.

- Bell, J.A., Kennelly, J.J. 2003. Short communication: Postruminal infusion of conjugated linoleic acids negatively impacts milk synthesis in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 86: 1321-1324.
- Butler, G., Nielsen, J.H., Slots, T., Seal, C., Eyre, M.D., Sanderson, R., Leifert, C. 2008. Fatty acid and fat-soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and organic systems: seasonal variation. *J. Sci. Food Agric.* 88: 1431-1441.
- Capuano, E., Rademaker, J., van den Bijgaart, H., M. van Ruth, S. 2014. Verification of fresh grass feeding, pasture grazing and organic farming by FTIR spectroscopy analysis of bovine milk. *Food Research International* 60: 59-65.
- Chamberlain, A.T., Wilkinson, J.M. 1996. Feeding the dairy cow. Lincoln, UK. 89pp.
- Chen, S., Bobe, G., Zimmerman, S., Hammond, E.G., Luhman, C.M., Boylston, T.D., Freeman, A.E., Beitz, D.C. 2004. Physical and sensory properties of dairy products from cows with various milk fatty acid compositions. *J. Agric. Food Chem.* 52: 3422-3428.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Doreau, M. 2001. Effect of different types of forages animal fat marine oils in cows diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livest. Prod. Sci.* 70: 31-48.
- Chilliard, Y., Ferlay, A. 2004. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod. Nutr. Dev.* 44: 467-492.
- Chouinard, P.Y., Corneau, L., Barbano, D.M., Metzger L.E., Bauman, D.E. 1999. Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. *J. Nutr.* 129: 1579-1584.
- Christie W.W. 1982. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters. *J. Lipid Research*, 23: 1072.

- Clark, D. A. y Kanneganti, V.R. 1998. Grazing management systems for dairy cattle. En: Grass for dairy cattle. JH Cherny (Eds). CABInternational, Oxon, UK. 331pp.
- Clifton, P.M., Keogh, J.B., Noakes, M. 2004. Trans fatty acids in adipose tissue and the food supply are associated with myocardial infarction. *J. Nutr.* 134: 874-879.
- Collomb, M., Bütkofer, U., Sieber, R., Jeangros, B., Brosset, J.O. 2002. Composition of fatty acids in cow's milk fat produced in the lowlands, mountains and highlands of Switzerland using high-resolution gas chromatography. *Int. dairy J.* 12: 649-659.
- David, A. y Williams, P. 1996. Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves. Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Conference NIR Publications. Chichester. (UK). 742pp.
- Dawson, R.M.C., Hemington, N. 1974. Digestion of grass lipids and pigments in the sheep rumen. *Br. J. Nutri.* 32: 327-340.
- de la Roza Delgado, B., Soldado, A., Modroño, S., González, M.A., Argamentería, E., Martínez Fernández, A. 2012. Evolución da calidade dos ensilados de millo elaborados nas explotacións leiteiras da Cornixa Cantábrica nos últimos anos. *AFRIGA ANO XVIII-100.* 74-80.
- de la Roza, B.; Vicente, F., Soldado, A., Martínez-Fernández, A., Argamentería, A. 2014. Uso de Unifeed en alimentación de rumiantes. *Ganadería:* 93, pp. 50 - 53
- Dewhurst R. J., Shingfield K.J., Lee M.R.F., and Scollan N. D. 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Feed Sci. Tech.* 131(3-4). 168-206.
- DeVries, T.J., von Keyserlingk, M.A.G., Beauchemin, K.A. 2003. Diurnal feeding pattern of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 4079-4082.
- Dhiman, T.R., Satter, L.D., Pariza, M.W. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk from cows different diets. *J. Dairy Sci.* 82: 2146-2156.

- Dhiman, T.R., Satter, L.D., Pariza, M.W., Galli, M.P., Albright, K., Tolosa, M.X. 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.* 83: 1016-1027.
- Elgersma, A., Ellen, G., van der Horst, H., Boer, H., Dekker, P.R., Tamminga, S. 2004. Quick changes in milk fat composition from cows after transition from fresh grass to a silage diet. *Anim. Feed Sci. Tech.* 117: 13-27.
- Elgersma A., Tamminga S. , Ellen G. 2006. Modifying milk composition through forage. *Anim. Feed Sci. Tech.* 131: 207-225.
- FAOSTAT. 2015.(Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division) <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QL/E> (consultado el 6 de abril de 2015)
- Faruque, A.J.M.O., Jarvis, B.D.W., Hawke, J.C. 1974. Studies on rumen metabolism. IX. Contribution of plant lipases to the release of free fatty acids in the rumen. *J. Sci. Food Agric.* 25: 1313-1328.
- Feng S., Lock A.L. y Garnsworthy. 2004. Technical Note: A rapid lipid separation method for determining fatty acid composition of milk. *J. Dairy Sci.*, 87: 3785.
- Ferlay, A., Martin, B., Pradel, P., Coulon, J.B., Chilliard, Y. 2006. Influence of grass-based diets on milk fatty acid composition and milk lipolytic system in tarentaise and Montbeliarde cow breeds. *J. Dairy Sci.* 83: 1016-1027.
- Fuentes, M.C., Casamiglia, S., Sánchez, C., González, A., Santos, J.E. 2006. Newbold JR. Rodríguez Alcalá LM y Fontecha J. Milk production, milk composition and reproduction function of dairy cows fed extruded. Proceedings of the 4<sup>th</sup> European Federation of Lipids Congress: 551.
- Gerosa S, Skoet J. 2012. Milk availability Trends in production and demand and medium-term outlook FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). ESA Working paper No. 12-01.
- Griinari, J.M. Corl, B.A., Lacy, S.H., Chouinard, P.Y., Nurmela, K.V.V., Bauman, D.E. 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating cows by delta 9-desaturase. *J. Nutr.* 130: 2285-2291.

- Griinari, J.M., Bauman, D.E. 2006. Milk fat depression: concepts, mechanisms and management. En: Ruminant physiology- Digestion , metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress. Sejrsen K. Hvelplund T. Nielsen MO (ed). Wageningen Acad.Publ. (NL). 389-2291pp.
- Grundy, S.M. 1994. Influence of stearic acid on cholesterol metabolism relative to other long chain fatty acids. Am. J. Clin. Nutrt., 60(6supl), 986S.
- Harfoot, C.G., Hazlewood, G.P. 1988. Lipid metabolism in ruminant animals. WW Christie (ed). Pergamon Press. Oxford, UK. 21-25pp.
- Havel, R.J. 1997. Milk fat consumption and human health: recent NIH and other American governmental recommendations. Milk composition, Production and Biothechnolgy. E Welch RAS. Burns D.J.W., Danis S.R., Popay, A.I. Prosser CG (Eds). Wallingford, UK. CAB International. 13-22 pp.
- Havemose, M.S., Weisberg, M.R., Bredie, L.P., Nielsen, J.H. 2004. Influence of feeding different types of roughage on the oxidative stability of milk. Int. Dairy J. 14: 563-570.
- Hawke, J.C. 1973. Lipids. Chemestry and biochemistry of herbage. Butler, G.W., Bailey, E.W. (ed). London. UK, Academic Press. 213-263.
- Hernandez-Mendo O., von Keyserlingk, M.A.G., Veira, D.M., Weary, D.M. 2007. Effects of lameness in dairy cows. J. Dairy Sci. 90: 1209-1214.
- Hernández-Ortega, M., Martínez-Fernández, A., Soldado, A., González, A., Arriaga-Jordán, C.M. Argamentería, A., de la Roza-Delgado, B. Vicente, F. 2014. Effect of total mixed ration composition and daily grazing pattern on milk production, composition and fatty acids profile of dairy cows. J. Dairy Research. 81: 471-478.
- Hespell, R.B., O'Bryan- Shah, P.J. 1988. Esterase activities in *Butyvibrio fibrisolvens* strains. Appl. Environ. Microbiol. 54: 1917-1922.
- Hill, D.L., Wall, E. 2014. Dairy cattle in temperate climate: the effects of weather on milk yield and composition depend on management. Animal (2015), 9:1. 138-149.

INRA (Institut National de la Recherche Agronomique). 1981. Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants. Ed.: INRA publications. Versalles (Francia). 590pp.

Ineichen, S., Piccand, V., Chevalley, S., Reidy, B., Cutullic, E. 2014. Feeding strategies and feed self-sufficiency of dairy farms in the lowland and mountain area of Western Switzerland. Grassland Science in Europe, 19- EGF at 50: the Future of European Grasslands 680-682.

Jahreis, G., Fritsche, J., Steinhart, H. 1997. Conjugated linoleic acid in milk fat: high variation depending on production system. Nutr. Res., 17-1479.

Jenkins, T.C. 1993. Symposium: advances in ruminant lipid metabolism. Lipid Metabolism in the rumen. J. Dairy Sci. 76: 3851-3863.

Jenkins, T.C., Wallace, R.J., Moate, P.J., Mosley, E.E. 2008. Board-invited review. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. J. Anim. Sci. 85: 295-350.

Jennes, R. 1986. Symposium: species variation in mammary gland function. Lactational performance of varius mammalian species. J. Dairy Sci. 69: 869-885.

Johson, A.H. 1978. The composition of milk. Fundamentals of dairy chemistry. Webb B.H., Johson, A.H., Alford, J.A. (Eds.) Avi. Publ. Co., Westport, CT.1-57pp

Kadzere, C.T., Murphy, M.R., Silanikove, N., Maltz, E. 2001. Heat stress in lactating dairy cows: a review. Livest. Prod. Sci. 77: 59-91.

Kahnal, R.C. y Olson, K.C. 2004. Factors affecting conjugated linoleic acid (CLA) content in milk, meat and egg: a review. Pakistan J. Nutr. 3(2), 82.

Kelsey, J.A., Corl, B.A., Bauman, D.E. 2003. The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid in milk fat from dairy cows. J. Dairy Sci. 86: 2588-2597.

Kraft, J., Collomb, M., Mockel, P., Sieber, R., Jahreis, G. 2003. Differences in CLA isomer distribution of cow's milk. Lipids. 38: 657-664.

- Korhonen, H.J., Pihlanto, A. 2006. Bioactive peptides: Production and functionality. Int. Dairy J..16:945-960.
- Lal, D., Narayanan, K.M. 1984. Effect of lactation number on the polyunsaturated fatty acids and oxidative stability of milk fats. Indian J. Dairy Sci. .37: 225-229.
- Larsen, M.K., Andersen, K.K., Kaufmann, N., Wiking, L. 2014. Seasonal variation in the composition and melting behavior of milk fat. J. Dairy Sci. 97: 4703-4712.
- Lawless, F., Murphy, J.J., Harrington, D., Devery, R., Stanton, C. 1998. Elevation of cis-9, trans-11 octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation. J. Dairy Sci. 81: 3259-3267.
- Lawless, F., Stanton, C., L'Escop, P., Devery, R., Dillon, P, Murphy, J. 1999. Influence of breed on bovine milk cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid content. Livest. Pro. Sci. 62: 43-49.
- Linzell, J.L. 1972. Mechanism of secretion of the aqueous phase of milk. J. Dairy Sci. 55: 1316-1322.
- Lock, A.L., Garnsworthy, P.C. 2003. Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and  $\Delta^9$ -desaturase activity in dairy cows. Livest. Prod. Sci. 87: 2472-2485.
- 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.
- M.A.F.F. 1984. Energy allowances and feeding systems for ruminants. Reference Book 433. Her Majesty's Stationery Office. London. UK. 71.
- Mackie, T.R., Petch, S.F., Bryant, A.M., Auldist, M.J., Henderson, H.V., McGibbon, A.K.H. 1997. Variation in the characteristics of milk fat from pasture-fed dairy cows during late spring and the effects of grain supplementation. N.Z.: J. Agric. Res. 40: 349-359.
- MAGRAMA 2013. (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente) [http://www.magrama.gob.es/es/megustalaleche/estudios-e-informes/Ficha\\_de\\_Consumo\\_LECHE\\_TAM\\_Marzo\\_2013\\_tcm7-285250.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/megustalaleche/estudios-e-informes/Ficha_de_Consumo_LECHE_TAM_Marzo_2013_tcm7-285250.pdf) (consultado el día 6 de abril de 2015).

MAGRAMA. 2014. (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente).  
[http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/temas/producción-y-mercados-ganaderos/Evoluci%C3%B3n\\_Principales\\_Magnitudes\\_Sector\\_L%C3%ADcteo\\_I-Producci%C3%B3n\\_tcm7-314115.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/Evoluci%C3%B3n_Principales_Magnitudes_Sector_L%C3%ADcteo_I-Producci%C3%B3n_tcm7-314115.pdf) (consultado el 6 abril de 2015)

MAGRAMA. 2015. (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente).  
[http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/temas/producción-y-mercados-ganaderos/estd21\\_cuota\\_inicio\\_14\\_15\\_tcm7-318454.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/temas/producción-y-mercados-ganaderos/estd21_cuota_inicio_14_15_tcm7-318454.pdf) (consultado el 6 de abril de 2015)

MAPA, 2003. (Ministerio de agricultura, pesca y alimentación) Anuario de Estadística Agroalimentaria. Ed.: Secretaría General Técnica. Madrid (España).

March, M.D., Haskell, Chagunda, M.G.G., Langford, F.M., Roberts D.J. 2014. Current trends in British dairy management regimens. J. Dairy Sci. 97:1-10.

Martínez- Fernández, A., Argamentería, A., de la Roza, B. 2014. Manejo de los forrajes para ensilar. Ed: SERIDA (Villaviciosa, Asturias). 25, 173-175pp.

McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G. 2011. Animal Nutrition. 7<sup>a</sup> ed. Zaragoza (España). 381-386pp.

Mehra, R., Marnila, P., Korhonen, H.J. 2006. Milk immunoglobulins for health promotion. Int. Dairy J.: 16: 1262-1271.

Mephan, T.B. 1982. Amino acid utilization by lactating mammary gland. J. Dairy Sci. 65: 287-298.

Morales-Almaráz, E. 2009. Modificación del perfil de ácidos grasos de la leche mediante el pastoreo complementario a dietas completas mezcladas. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza, Zaragoza (España). 3-14 pp.

Morales-Almaráz, E. Soldado, A., González, A., Martínez-Fernández, A., Domínguez-Vara, I., de la Roza-Delgado, B., Vicente, F. 2010. Improving the fatty acid level in milk of dairy cows. J. Dairy Research 77: 225-230.

Morales-Almaráz, E., de la Roza, B., González, A., Soldado, A., Rodríguez, M.L., Peláez, M., Vicente, F. 2011. Effect of feeding system on unsaturated fatty acid level in milk of dairy cows. Renew. Agr. Food Syst: 26 (39), 224-229.

Molenaar, A.; Mao, J., Oden, K., Seyfert, H.M. 2003. All three promoters of acetyl-coenzyme A-carboxylase. Alpha-encoding gene are expressed in mammary epithelial cells of ruminants. *J. Histochem. Cytochem.* 51: 1073-1081.

Mugica, I.; Sáez, J.L.; Galduroz, G. 1995. *Navarra Agrária*, 89: 37-42. Pamplona (España).

Muller, L.D. y Fales S.L.. 1998. Supplementation of coll-season grass pastures for dairy cattle. En: *Grass for dairy cattle*. JH Cherny (Eds). CABInternational, Oxon, UK. 335pp.

Nielsen, T.S., Straarup, E.M., Vestergaard, K.S. 2006. Effect of silage type and concentrate level on conjugated linoleic acids, trans-C18:1 isomers and fat content in milk from dairy cows. *Reprod. Nutr. Dev.* 46: 699-712.

NRC. 1989. Nutrient requirements of dairy cattle 6<sup>th</sup> rev. ed. Update 1989. National Academy Press, Washington, DC.

National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 2001. National Academy Press, 7th Revised Edition. Washington DC USA. 381 pp.

OMS, 1997. Grasas y aceites en la nutrición humana. Consulta FAO/OMS de expertos. (Estudio FAO Alimentación y Nutrición- 57). Organización Mundial de la Salud. Roma.

Palmquist, D.L. 1988. The feeding value of fats. Word Animal Science. B. Disciplinary Approach 4. Feed Science. ERØrsrskov (ed). Elsevier, Amsterdam. 293-311pp.

Palmquist, D.L., Jenkins, T.C. 1980. Fat in lactation rations: review. *J.Dairy Sci.* 63:1-14.

Park, Y. W., Korhonen, H. J. 2009. Bioactive Components in Milk and Dairy Products. Young W. Park, Ph. D. in Georgia Small Ruminant Research and Extension Center. 3-42pp.

Peterson, D.G., Kelsey, J.A., Bauman, D.E. 2002. Analysis of variation in cis-9, trans-11conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 2164-2172.

Rawn, J.D. 1989. Bioquímica, interamericana Mc Graw Hill.

RCore Team, 2014 R Foundation for Statistical computing. Viena (Austria).

Renner, E. 1982. Milch und Milchprodukte in der Ernährung des Menschen, Gelsenkirchen/Volkswirtschaftl. Verlag, München. 4 Aufl.

Rego, O.A., Rosa, H.J.D, Portugal, P., Cordeiro, R., Borba, A.E.S., Vouleza, C.M., Bessa, R.J.B. 2004. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid, omega-3 and other fatty acids in milk fat from grazing dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 95: 27-33.

Rutkowska, J., Bialek, M., Adamska, A., Zbikowska, A. 2015 Differentiation of geographical origin of cream products in Poland according to their fatty acid profile.

SADEI (Sociedad Asturiana de Estudios Económicos e Industriales). 2010. Las explotaciones ganaderas en Asturias 2010. Evolución de las explotaciones y de la cuota láctea. Gobierno del Principado de Asturias (Ed). Asturias, (España). XVII pp.

SADEI, 2007 (Sociedad Asturiana de Estudios Económicos e Industriales) <http://www.sadei.es/es/cargarAplicacionIndiceTematico.do> (Consultado el 15 enero 2015)

SADEI, 2014 (Sociedad Asturiana de Estudios Económicos e Industriales) <http://www.sadei.es/es/cargarAplicacionIndiceTematico.do> (Consultado el 15 enero 2015)

Schmidt, D.G. 1982. Association of caseins and casein micelle structure. *Developments in Dairy Chemistry*, 1. Protein. PF(Fox) (Ed). Applied Science. London 61-86.

Schroeder G.F., Delahoy, J.E., Vidaurreta, I., Bargo, F., Gagliostro, G. A., Muller, L.D. 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.

Schwab, C.G., Bozak, C.K., Whitehouse, N.L. 1992. Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation. 1. Sequence of lysine and methionine limitation. *J. Dairy Sci.* 75: 3486-3502.

Servicios Técnicos de Central Lechera Asturiana. 2012. Reducir el coste total de los alimentos comprados fuera de la explotación como estrategia para mejorar los resultados económicos de las explotaciones lecheras. Frisona Española. 191:114-116.

Shingfield, K.J., Chilliard, Y., Toivonen, V., Kairenus, P, Givens, D.I. 2008. Trans Fatty Acids and Bioactive Lipids in Ruminant Milk. En: Bioactive Components of Milk, 3-65. Advances in Experimental Medicine and Biology, Vol. 606. Ed.: ZsuzsannaBösze. Springer.

Slattery, C.W. y Evard R. 1973. A model for the formation structure of casein micelles from subunits of variable composition. Biochem. Biophys. Acta: 317: 529-538.

Soder, K.J. y Rotz, C.A. 2001. Economic and environmental impact of four levels of concentrate supplementation in grazing dairy herds. J. Dairy Sci. 84: 2560-2572.

Slots, T., Butler, G., Leifert, C., Kristensen, T., Skibsted, L.H., Nielsen, J.H. 2009. Potentials to differentiate milk composition by different feeding strategies. J Dairy Sci. 92: 2057-2066.

Staton, C., Lawless, F., Kjellmer, G., Harrington, D., Devery, R., Connoly, J.F., Murphy, J. 1997. Dietary influences on bovine milk cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid content. J. Food Sci. 62: 1083-1086.

Van Dorland, H.A., Kreuzer, M., Leuenberger, H., Wettstein, H.R. 2008. Comparative potencial of white clover to modify the milk fatty acids profile of cows fed raygrass based diets from xero-grazing and silage systems. J. Sci. Food Agric. 88: 77-85.

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B. A.1991. Methods of dietary, neutral detergent fiber and non starch polisaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583-3597.

Vicente, F. 2002. Informe técnico I. relación entre la concentración de urea en leche y el manejo nutricional del ganado vacuno lechero. Oviedo, SERIDA. KRK Ediciones.

Wijsundera, C., Shen, Z., Wales, W.J., Dalley, D.E. 2003. Effect of cereal grain and fibre supplements on the fatty acid composition of milk fat of grazing dairy cows early lactation. *J. Dairy Res.* 70: 257-265.

Wakabayashi, H., Yamauchi, K., Takase, M. 2006. Lactoferrin research, thecnology and applications. *Int. Dairy J.* 16: 1241-1251.

## **8. ANEXO**



## CUESTIONARIO SOBRE ALIMENTACIÓN

Esta encuesta se realiza con el objeto de caracterizar la ingesta y la composición química de la ración de las vacas de leche de las explotaciones muestreadas en el marco del proyecto de investigación RTA 2012/65 desarrollado conjuntamente por las CCAA de Navarra, Euskadi, Cantabria, Asturias y Galicia. Los datos recogidos en esta encuesta serán utilizados por agregación a los de otras explotaciones y sin hacer referencia a ninguna explotación individual. Todos los datos solicitados se refieren a la alimentación en los días anteriores al muestreo.

### IDENTIFICACIÓN DE LA EXPLOTACIÓN

CEA (código de explotación agraria)	
TITULAR da explotación	
FECHA de visita	

### ALIMENTACIÓN DE LAS VACAS EN LACTACIÓN DURANTE LOS TRES DÍAS

#### ANTERIORES AL DE LA VISITA (*no considerar las vacas secas ni la recría*)

¿Consumieron, las VACAS EN LACTACIÓN, HIERBA EN FRESCO (hierba pastada o segada y ofrecida el mismo día en el pesebre)?      Si       No

¿En caso afirmativo, de qué modo?      En el pasto       En el pesebre       En ambos

¿En caso de hacer PASTOREO, cuántas HORAS/DÍA pasan las vacas en lactación en el pasto?

¿De qué forma suministra LOS ALIMENTOS DE LA RACIÓN?

Mezclados con CARRO       De otro modo

Indicar el número medio de VACAS EN LACTACIÓN en los tres días anteriores

	vacas totales	vacas frisonas	otras razas	observación
Nº de vacas en lactación				

Hace alimentación por lotes?      Si       No

Hace punteo en las vacas de alta producción?      Si       No

El pienso comercial o mezcla de materias primas que utilizó estos días está enriquecido con aceite de oleaginosas?      Si       No

En caso afirmativo:

1.- Qué tipo de aceite? (indicar)

2.- En qué concentración? (indicar)

1 Debe evitarse que el momento de la visita coincida con cambios en la alimentación de las vacas. En esta situación, el período de tres días es indicativo, pudiendo ampliarse hasta una semana antes de la toma de muestras, a juicio del entrevistador.

**Indicar la ración (en kg en fresco/vaca y día), durante los tres últimos días.** En caso de haber varios lotes o vacas de alta producción punteadas, indicar la ración en la columna correspondiente.

	Lote1	Lote 2	Observaciones
	Lote único o lote de baja producción	Lote de alta producción	
Vacas por lote (indicar número)			
<b>Producto</b>	<b>kg/vaca y día</b>	<b>kg/vaca y día</b>	
<b>a) Forrajes</b>			
Ensilado de maíz			
Ensilado de hierba (en silo grande)			
Ensilado de hierba (en rotopacas)			
Hierba seca (heno)			
Paja de cereal (indicar si otro tipo)			
Alfalfa			
Otros (indicar)			
<b>b) Concentrados y suplementos</b>			
Pienso comercial o mezclas de materias primas			
Harina de cereal (indicar tipo)			
Torta de oleaginosas (indicar tipo)			
DDGS (indicar tipo)			
Bagazo de cerveza			
Pulpa de remolacha			
Otros (indicar)			

## **AUTORIZACIÓN DE USO DE DATOS**

La persona representante de la explotación \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ autoriza a

\_\_\_\_\_ a emplear estos datos sólo con fines científicos en el contexto del proyecto de investigación  
RTA 2012/65 y de forma agregada a los datos de otras explotaciones

Fecha: \_ \_ / \_ \_ / 2014

Nombre: \_\_\_\_\_

Firma:

