

## **SECCIÓN II**

# **LÍPIDOS EN LA NUTRICIÓN DE LOS RUMIANTES**

### **Autores**

**Angulo Joaquín  
Carulla Juan  
Giraldo Carlos  
Mahecha Liliana  
Olivera Martha  
Pabón Martha Lucía  
Rojas Carlos I.**

## SECCIÓN I

# IMPACTO DE LA REFINANCIA- CIÓN DE DEUDA

Índice

Introducción	1
El impacto de la refinanciación de deuda	5
El impacto de la refinanciación de deuda en el sector público	15
El impacto de la refinanciación de deuda en el sector privado	25
El impacto de la refinanciación de deuda en el sector financiero	35
El impacto de la refinanciación de deuda en el sector empresarial	45
El impacto de la refinanciación de deuda en el sector inmobiliario	55
El impacto de la refinanciación de deuda en el sector de servicios	65
El impacto de la refinanciación de deuda en el sector de energía	75
El impacto de la refinanciación de deuda en el sector de telecomunicaciones	85
El impacto de la refinanciación de deuda en el sector de transporte	95

## Capítulo 4

### ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO (ALC): FACTORES DIETARIOS QUE AFECTAN SU CONTENIDO EN LECHE

*Carlos Iván Rojas<sup>1</sup>; Martha L. Pabón, Química, MSc, PhD<sup>1,2</sup>;  
Juan Carulla, MSc, PhD.<sup>1</sup>*

#### Resumen

*El ácido linoléico conjugado (ALC) C18:2 cis-9,trans-11 es el isómero más abundante de un grupo de ácidos grasos de 18 carbonos con enlaces conjugados que se encuentra en la grasa de la leche y tiene propiedades nutraceuticas (actividad anticancerígena y propiedades anti-diabetogénicas, antiadipogénicas, antiaterogénicas, además de la potencialización del sistema inmune y la mejora en la mineralización del hueso).*

*Aunque los primeros estudios indicaban que el ALC lácteo provenía de la isomerización ruminal del ácido linoléico C18:2 estudios posteriores demostraron que el 90% del ALC se sintetiza en la glándula mamaria por acción de la delta 9 desaturasa sobre el ácido vaccénico ruminal C18:1 trans-11 que removiendo dos hidrógenos forma un doble enlace en el carbono 9. El ácido vaccénico se forma en el rumen a partir del ácido linoléico C18:2 y del ácido linolénico C18:3, y por lo tanto dietas con altos contenidos de estos compuestos producen mayores niveles de ALC. Sin embargo, cuando el pH ruminal es bajo se disminuye la cantidad de ácido vaccénico e incrementa el isómero ALC trans-10,cis-12 que disminuye la grasa de la leche e inhibe la síntesis del ALC cis-9,trans-11.*

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. [carlivan79@hotmail.com](mailto:carlivan79@hotmail.com) [jecarullaf@unal.edu.co](mailto:jecarullaf@unal.edu.co)

<sup>2</sup> Departamento de Química, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. [mlpabonr@unal.edu.co](mailto:mlpabonr@unal.edu.co)

Los niveles de ALC en la leche oscilan entre 4 y 14 mg/g de grasa y dependen de los substratos y del pH ruminal. Se obtienen mayores niveles de ALC en animales en pastoreo que cuando se alimentan con TMRs. La adición de aceites con altos contenidos de ácido linoléico y ácido linolénico como los aceites de soya, girasol y lino aumentan los niveles de ALC. La adición de sebo que contiene ácidos grasos saturados no incrementa los niveles de ALC. Los aceites de pescado han mostrado ser, en cantidades equivalentes, más efectivos que los aceites vegetales para aumentar los niveles de ALC, pero disminuyen la cantidad de grasa. Estos contienen altas cantidades de ácido eicosapentaenoico (EPA) (C20:5 n-3) y de docosahexaenoico (DHA) (C22:6 n-3) y aunque no es posible obtener transvaccénico a partir de estos ácidos grasos se ha observado el incremento del trans-11 en el rumen y en la leche. Se ha propuesto que el EPA y el DHA, pueden aumentar las concentraciones de vaccénico por inhibición del crecimiento de bacterias que hidrogenan el vaccénico o de sus enzimas reductasas. La suplementación con algas marinas (*Schizochytrium* sp.) (ricas en ácido palmítico, oleico y linoléico) protegidas y no protegidas, produce niveles altos de ALC en la leche aunque son mayores con las algas no protegidas.

## Conjugated linoleic acid: Dietary factors affecting its content in milk

### Summary

*Conjugated linoleic acid (ALC) cis-9,trans-11 is the most abundant isomer of conjugated linoleic acids of 18 carbons with conjugated bonds present in milk fat and is a nutraceutical compound. ALC has been shown to have anticarcinogenic, antidiabetic, antiadipogenic, antiatherogenic properties. It also enhances immune response and increases bone mineralization.*

*ALC was first thought to be derived from the ruminal isomerization of linoleic acid. Later it was demonstrated that 90% of milk ALC is synthesized endogenously by mammary gland. The substrate for the enzyme is ruminal vaccenic acid that removing two hydrogens is converted to ALC by 9 desaturase in the mammary gland. Vaccenic acid is formed in the rumen from both linoleic and linolenic acid and it has been demonstrated that diets rich in these compounds increase milk ALC concentrations. However, when ruminal pH is low the amount of vaccenic acid decreases and ALC trans 10 cis 12 increases. This compound decreases milk fat and inhibits ALC cis 9 trans 11 synthesis.*

*The range of milk ALC concentration is from 4 to 14mg/g of fat, depending on substrates and ruminal pH. Higher ALC levels are found in milk from cows fed pasture than TMR diets. The addition of vegetable oils with high contents of linoleic and linolenic acid such as soybean, sunflower and linseed oil increase ALC levels. Addition of tallow, which has a high content of saturated fatty acids, does not increase ALC levels. Fish oils are more effective than vegetable oils in increasing ALC levels but milk fat content is decreased. Fish oils have high concentrations of eicosapentaenoic acid (EPA) (C20:5 n-3) and docosahexaenoic acid (DHA) (C22:6 n-3). Although ruminal vaccenic acid can not be obtained from EPA and DHA, high levels of vaccenic acid has been found with the addition of fish oil. It has been proposed that EPA and DHA may inhibit the growth of bacteria that hydrogenate vaccenic acid or inhibit their reductases. Supplementation with marine algae (*Schizochytrium sp.*), rich in palmitic, oleic and linoleic acids protected or unprotected results in higher milk ALC levels but they are higher with the unprotected algae.*

## Introducción

La investigación sobre la calidad de la leche se ha enfocado principalmente a su componente proteico. La concentración y composición de la grasa son un tema de creciente interés debido a su importancia en el rendimiento quesero y a que recientemente se han descubierto algunas moléculas con efectos positivos en la salud (nutracéuticas) en la grasa de la leche.

Una de las pocas sustancias nutracéuticas de origen animal se encuentra en grasa de leche y derivados lácteos. Esta consiste en una mezcla de isómeros conjugados de ácido linoléico de los cuales el *cis-9,trans-11* (ALC) es el más abundante. En ratas y conejos se ha demostrado que este compuesto es una de las moléculas más potentes de la naturaleza con actividad anticancerígena y propiedades anti-diabetogénicas, anti-adipogénicas, anti-aterogénicas, además de la potencialización del sistema inmune y la mejora en la mineralización del hueso (Pariza y Hargreaves 1985; Belury, 1995; Banni y Martin, 1998). Se ha comprobado que las moléculas de ALC son efectivas contra el cáncer en ensayos *in vitro* con células tumorales de seno, colorectales, leucemia, de próstata, y de ovario, provenientes de humanos. (Scimeca, 1999). En Colombia se ha demostrado que puede tener efectos positivos en mujeres primigrávidas con riesgo de preeclampsia (Herrera, 2004).

En este artículo trataremos aspectos generales sobre el isómero *cis-9,trans-11* de ácido linoléico conjugado (ALC), su síntesis y los principales factores dietarios que afectan sus niveles en la grasa de la leche.

## Ácido Linoléico conjugado

El ALC es un ácido graso que se presenta en forma de isómeros posicionales y geométricos del ácido linoléico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12). A diferencia de los ácidos grasos naturales, los dobles enlaces no están cada tres carbonos sino cada dos carbonos (doble, sencillo, doble). Estos isómeros se presentan principalmente en la grasa de los rumiantes aunque otras especies animales, incluyendo al hombre y vegetales también lo contienen en pequeñas proporciones. Se han identificado 20 isómeros de ALC diferentes en las posiciones de los dobles enlaces y adicionalmente con diferencias en la configuración de los dobles enlaces como *cis-trans*, *trans-cis*, *cis-cis*, y *trans-trans* (Sehat y col. 1998). Se presentan isómeros de ALC con posiciones de los dobles enlaces en 7-9 10-12 12-14 11-13 y 8-10. En la grasa de la leche bovina predomina el C18:2 *cis*-9,*trans*-11 que representa el 80-95% del ALC total. (Bauman y Griinari.,2001).

Las concentraciones de ALC que se han encontrado en la grasa de la leche oscilan entre 2.5 y 7mg/g de grasa (Chin, *et al.*, 1992, Lin, *et al.*, 1995, Banni y Martín., 1998) bajo sistemas de alimentación basados en granos pero pueden llegar a valores que superan los 20 mg/g de grasa en sistemas de pastoreo (Dhiman, *et al.*, 1999).

## Lípidos en los recursos alimenticios

Las fuentes de lípidos en los sistemas de alimentación son forrajes, cereales, semillas de oleaginosas, subproductos, grasas y aceites. La concentración de lípidos en los forrajes es de 1-4% y estos están compuestos principalmente por galactosilmonoglicéridos, galactosildiglicéridos y fosfolípidos (Tabla 1). En los forrajes de zonas templadas entre 55-65% del total de ácidos grasos es ácido linoléico (C18:3) (Bauchart, *et al.*, 1984), mientras los forrajes de zonas tropicales contienen entre 15-40% (Chilliard, *et al.*, 2001). En las leguminosas los contenidos de ácido linoléico pueden ser mayores.

El contenido de lípidos en cereales, semillas oleaginosas y grasas es variable, más elevado y principalmente en forma de triglicéridos, predominando los ácidos grasos insaturados oleico (C18:1) y linoléico (C18:2). Los cereales tienen una concentración aproximada de lípidos entre 1-4% con un porcentaje de ácido linoléico de 40-60% del total. Las semillas de oleaginosas contienen entre 15-40% de lípidos y de este porcentaje el 50-70% es ácido linoléico (Palmquist, 1988) (Tabla 2).

Por lo tanto los ácidos grasos más abundantes en los alimentos que consumen los ruminantes son el ácido linoléico, el ácido linolénico, y en menores proporciones el oléico.

**Tabla 1- Composición de los lípidos de diferentes forrajes (%)**

Planta	FC	FG	FE	MGDG	DGDG
Medicago sativa <sup>a</sup>	4.6	4.2	5.4	53.5	32.3
Trifolium repens <sup>a</sup>	4.5	4.1	5.2	46.7	31.2
T. repens (juvenil) <sup>b</sup>	16.4	11.5	13.1	45.9	13.1
T. repens (adulto) <sup>b</sup>	3.2	4.5	2.3	67.5	22.5
Lolium perenne <sup>a</sup>	8.0	11.1	6.2	42.1	32.6
Paspalum sp. <sup>a</sup>	5.6	3.44.3		54.232.5	
Zea mais <sup>a</sup>	5.1	7.43.8		48.135.7	

FC=Fosfatidilcolina; FG=Fosfatidilglicerol; FE=Fosfatidiletanolamina;

MGDG=monogalactosildiglicérido; DGDG=digalactosildiglicérido

<sup>a</sup>Porcentaje calculado en base peso (Roughan y Batt 1969)

<sup>b</sup>Porcentaje calculado en base molar (Trémolieres 1970)

**Tabla 2. Composición de ácidos grasos de algunos recursos expresado como porcentaje del total de ácidos grasos.**

	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3
<b>Olefinosas<sup>a</sup></b>							
Algodón	0.8	25.3	—	2.8	17.1	53.2	0.1
Soya	0.2	10.7	0.3	3.9	22.8	50.8	8.2
Girasol	0.1	5.5	—	3.6	21.7	68.5	0.1
<b>Cereales<sup>a</sup></b>							
Maíz	0.1	16.3	—	2.6	30.9	47.8	2.3
Avena	0.1	22.1	1.0	1.3	38.1	34.9	2.1
Trigo	0.1	20.0	0.7	1.3	17.5	55.8	4.5
<b>Forrajes</b>							
Rye grass <sup>a</sup>	0.2	11.9	1.7	1	12.2	14.6	68.2
Trébol Blanco <sup>a</sup>	1.1	6.5	2.5	0.5	6.6	18.5	60.7
Alfalfa <sup>b</sup>	0.5	2.7	0.5	0.5	0.5	1.7	95.0

<sup>a</sup>Palmquist 1988, <sup>b</sup> Medeiros 2000

## Transformaciones de los lípidos en el rumen

**Lipólisis.** Por efecto de la masticación, los lípidos de los recursos alimenticios quedan expuestos en el rumen, donde se inicia un proceso de lipólisis por la acción de las lipasas microbiales. La lipólisis es la hidrólisis de los enlaces éster entre el glicerol y los ácidos grasos y del enlace éter de la galactosa. La *Anaerovibrio lipolytica* es la especie más conocida con actividad de lipasas extracelulares, que hidrolizan los galactosilglicéridos, y fosfolípidos a ácidos grasos libres, galactosa y glicerol y los fosfolípidos a ácidos grasos libres, fosfato y glicerol con una pequeña acumulación de mono y/o diglicéridos. El glicerol es fermentado rápidamente, produciendo ácido propiónico como producto final y la galactosa se convierte en ácidos grasos volátiles. Aunque hay muchas especies involucradas en el proceso de lipólisis como es el caso de *Butyrivibrio fibrisolvens*, solo unas pocas especies pueden hidrolizar triglicéridos con ácidos grasos de cadena larga (Jenkins, 1993).

Se ha demostrado que la velocidad de la lipólisis ruminal aumenta al aumentar el grado de insaturación de los ácidos grasos aunque esto no se cumple para el aceite de pescado a pesar de ser insaturado. Por lo tanto los aceites son hidrolizados más rápidamente que el sebo (Hobson y Stewart., 1997).

La actividad lipolítica está determinada por el ecosistema ruminal, y ésta se puede ver influenciada por factores dietarios como el estado de madurez del forraje, el contenido de nitrógeno y el tamaño de las partículas alimenticias en el rumen.

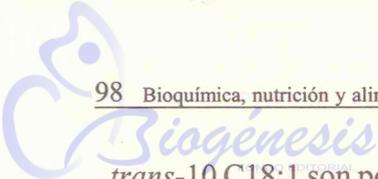
Luego del proceso de lipólisis ocurre un proceso de biohidrogenación; los lípidos esterificados que no se hidrolizan quedan contenidos principalmente en el fluido ruminal, mientras los ácidos grasos se van asociando a la superficie de células microbianas y a partículas vegetales donde ocurre la biohidrogenación. En esta etapa puede existir competencia entre microorganismos y partículas del alimento por la adsorción de los ácidos grasos (Hobson y Stewart., 1997). Los ácidos grasos libres insaturados se van saturando rápidamente por los microorganismos convirtiéndose en intermediarios, cada vez más saturados; solo el 1-2% del hidrógeno ruminal es usado en este proceso.

El paso inicial en la biohidrogenación es la isomerización de los algunos ácidos grasos insaturados mediante isomerasas ubicadas en la membrana celular de algunas bacterias. Esta reacción es inusual por que no requiere de cofactor y ocurre en la parte media de una cadena hidrocarbonada larga y lejos de un grupo

funcional; para que esta reacción ocurra, el ácido graso debe poseer un grupo carboxilo libre.

**Biohidrogenación de los ácidos grasos y síntesis de ALC en el rumen.** Se han descrito dos vías para la hidrogenación ruminal de los ácidos grasos insaturados (Figuras 1 y 2). En la primera vía, la biohidrogenación del ácido linolénico (C18:3 *cis-9,cis-12,cis-15*) y del ácido linoléico (C18:2 *cis-9,cis-12*) comienzan con la acción de una isomerasa sobre el doble enlace *cis-12* convirtiéndolo en *trans-11* dando como productos el *cis-9,trans-11,cis-15* y el *cis-9,trans-11* (ALC) respectivamente. La isomerasa requiere un sustrato de tipo *cis-9,cis-12* y un grupo carboxilo libre. El *cis-9,trans-11,cis-15* se convierte en *trans-11,cis-15* y posteriormente en *trans-15* o *cis-15* o en *trans-11* (Figura 1). Mediante la biohidrogenación enzimática, también se pueden formar isómeros *trans* desde las posiciones C4 a C16 a partir de una migración del doble enlace (Shorland., 1955) o mediante la isomerización y biohidrogenación (Kemp y Lander., 1984, Harfoot y Hazlewood, 1998). El ALC *cis-9,trans-11* puede convertirse en *trans-11* (ácido vaccénico) y posteriormente en C18:0. Sin embargo, dependiendo de las velocidades de las reacciones enzimáticas estos ácidos grasos pueden no ser hidrogenados por completo y pasar al intestino. Estudios *in vitro* con ácido linoléico y fluido ruminal han demostrado que el ALC *cis-9,trans-11* se convierte rápidamente en ácido octadecenoico *trans-11* (vaccénico). La hidrogenación del ácido octadecenoico *trans-11* ocurre menos rápido y por lo tanto este se acumula en el rumen y está más disponible para absorción en el intestino (Tanaka y Shigeno, 1976, Singh y Hawke, 1979). Cuando la dieta provee una gran cantidad de ácidos grasos insaturados, el ácido vaccénico se acumula de tal forma que actúa inhibiendo la biohidrogenación a esteárico C18:0.

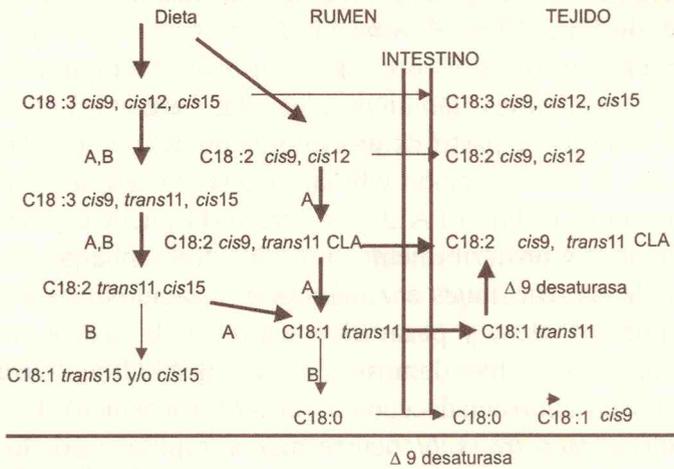
En este proceso de isomerización y biohidrogenación de los ácidos grasos linolénico y linoléico se involucran varios tipos de bacterias que han sido clasificadas como grupo A y grupo B (Harfoot y Hazlewood., 1988). En el proceso de hidrogenación para el ácido linolénico intervienen los dos grupos, mientras que en el del linoléico se involucran principalmente bacterias del grupo A y algunas del B pero en forma *transitoria* (Fig 1). Las bacterias más representativas del grupo A en la isomerización del ácido linoléico y linolénico son el *Butyrivibrio fibrisolvens* y el *Eubacterium*, aunque otras bacterias hacen esta isomerización de una manera *transitoria* como es el caso de *Ruminococcus albus*. Una segunda vía para la biohidrogenación de los ácidos grasos ha sido reportada por Vehulst, *et al.*, (1987) (Figura 2). La principal diferencia con la vía descrita anteriormente es la formación de compuestos *trans-10* que originan el isómero ALC *trans-10,cis-12*. Se ha demostrado que las moléculas de ácidos grasos



*trans*-10 C18:1 son potentes inhibidores de la síntesis de grasa de la leche y que el isómero *trans*-10,*cis*-12 ALC inhibe la síntesis del isómero *cis*-9,*trans*-11 ALC en la grasa de la leche (Grinari *et al.*, 1998, Chouinard, *et al.*, 1999, Baumgaard *et al.*, 2000, Loores and Herbein., 2002, Giesy, *et al.*, 2002).

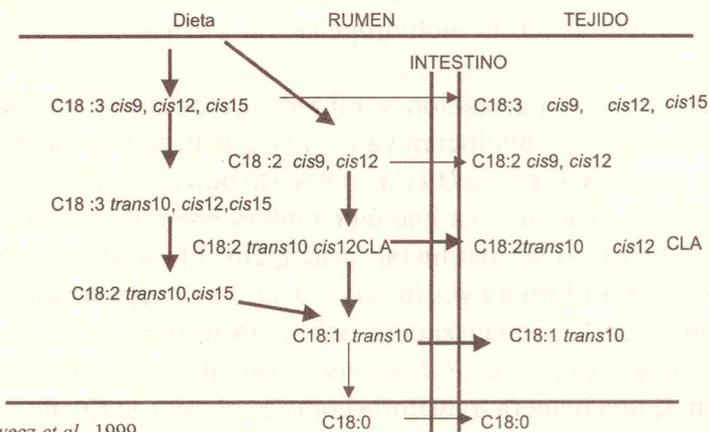
La presencia de una u otra vía depende de la dieta del animal que determina el pH ruminal ya que este define los tipos de bacterias que predominan en el rumen.

**Figura. 1. Transformación de ácidos grasos insaturados en el rumen**



A, B= Grupo de bacterias que intervienen

**Figura. 2. Transformación de ácidos grasos insaturados en el rumen a pH bajo.**



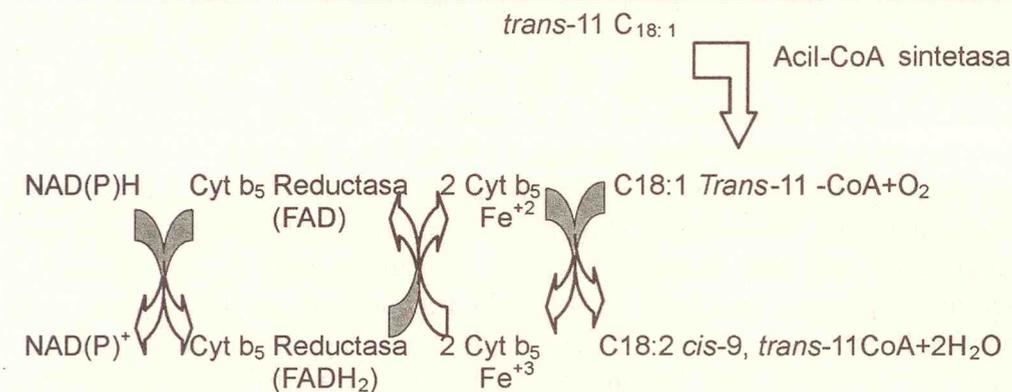
Adaptado de Yurawecz *et al.*, 1999

## Síntesis endógena de ALC

Como se mencionó anteriormente el ácido vaccénico (C18:1 *trans-11*) se absorbe en el intestino y llega a los tejidos. En tejidos como intestino, hígado, tejido adiposo y glándula mamaria, se encuentra la enzima D9 desaturasa que deshidrogena el ácido vaccénico en el carbono 9 para dar ALC. El sistema de desaturación (D<sup>9</sup>desaturasa) incluye el NADPH-citocromo, el citocromo b<sub>5</sub> reductasa, y el citocromo b<sub>5</sub> y requiere la presencia de oxígeno y del derivado CoenzimaA del ácido graso. (Figura 3). Existen diferencias entre especies y tejidos en la actividad de la D<sup>9</sup>desaturasa. En algunas especies no-rumiantes, la actividad de la enzima es alta en el hígado. En contraste, en rumiantes en crecimiento, la actividad es alta en tejido adiposo. Esto sugiere que el tejido adiposo es el sitio primario para la conversión del *trans-11* a ALC, para rumiantes en crecimiento. En hembras lactantes es más importante la glándula mamaria para este proceso (Bickerstaffe y Jonson, 1972).

Griinari, *et al.* (2000) estudiaron la importancia de la síntesis endógena de ALC, a partir de C18:1 *trans-11* mediante infusiones abomasales. Ellos reportaron un aumento en la concentración de ALC *cis-9,trans-11* en la leche y demostraron que existe una vía activa para la síntesis endógena de ALC a partir del isómero *trans-11* proveniente del rumen, por acción de la D9 desaturasa. Anteriormente se había observado que el isómero ALC, C18:2 *trans-7,cis-9*, era el segundo en abundancia en la grasa de la leche y que este se originaba de la D9 desaturación del *trans-7* C18:1 ruminal (Piperova, *et al.* 2000). Lo anterior sugiere que los niveles de ALC en la leche no son un reflejo de una biohidrogenación incompleta en el rumen.

En un estudio posterior, se encontró que la producción total de ALC en leche era mayor ( $p < 0.001$ ) que la encontrada en el flujo duodenal de vacas que consumían diferentes dietas (Piperova, *et al.*, 2002). Según los autores esto se debió al aumento en los isómeros de ALC, *cis-9,trans-11* y *trans-7,cis-9* provenientes de la síntesis endógena por acción de la D9 desaturasa sobre los ácidos grasos *trans* provenientes del rumen. Se reportó que al menos el 93% del *cis-9,trans-11* y casi todo el *trans-7,cis-9* son sintetizados en la glándula mamaria. Para otros isómeros de ALC, el paso al duodeno fue mayor que la secreción en leche sugiriendo que se producen esencialmente en el rumen. Kay, *et al.* (2004) por medio de la inhibición de la D9 desaturasa con aceite estercúlico, demostraron que el 91% del ALC es sintetizado endógenamente.

**Figura 3. Complejo enzimático delta 9 desaturasa**


## Factores que afectan los niveles de ALC en la leche

El efecto de los factores fisiológicos sobre los niveles de ALC en la leche ha sido poco estudiado en rumiantes. White *et al.* (2001) compararon los niveles de ALC en vacas Holstein y vacas Jersey y concluyeron que independientemente de la dieta las concentraciones de ALC eran mayores en vacas Holstein. Dentro de una misma raza, se han encontrado diferencias individuales en los niveles de ALC en la leche con diferencias hasta de tres veces (White *et al.*, 2001). El número de partos y el estado de la lactancia no se han relacionado marcadamente con las concentraciones de ALC; tampoco existe una correlación marcada entre la producción de leche, el porcentaje de grasa y la producción de grasa con la cantidad de ALC *cis*-9,*trans*-11 en la leche (Kesley, *et al.* 2003).

El efecto del tipo de alimento (forraje vs TMR o concentrado) y la adición de lípidos, de diferentes fuentes, a la dieta sobre los niveles de ALC han sido los factores más estudiados.

### Tipo de alimento

**Forrajes.** Kelly, *et al.* (1998) investigaron los cambios en los niveles de ALC cuando vacas Holstein eran alimentadas durante un primer periodo con TMR, luego con una dieta mezclada (TMR y pasturas) y finalmente con solo pasturas. Al aumentar el pastoreo se observó una disminución en la producción de leche, y en los porcentajes de grasa y proteína de la leche. El ácido linoléico (C<sub>18:2</sub>) disminuyó en la grasa de la leche mientras el ácido linolénico (C<sub>18:3</sub>) y el ALC aumentaron en la medida que los animales se les suministraba más pastura. Las vacas que consumían solo pastura tuvieron niveles de ALC significativamente mayores que las que consumían TMR (5.4 vs 10.9 mg/g de grasa).

Dhiman, *et al.* (1999) encontraron que los niveles de ALC se incrementaban linealmente en vacas Holstein a medida que la materia seca de la dieta se reemplazaba por pastoreo de gramíneas y leguminosas. Se encontraron niveles de ALC desde 8.9 mg/g de grasa cuando el consumo de pasto representaba 1/3 del consumo en materia seca, hasta 22.1 mg/g de grasa en pastoreo completo (Tabla 3). La composición de la pastura fue una mezcla de *Poa pratensis*, *Elytrigia repens*, *Bromus inermis*, Y *Trifolium repens*; y en base seca contenía 19% de proteína cruda, 50.6% de FDN y 25.8% de FDA. (tabla 3).

**Tabla 3. Efecto del incremento del pastoreo en la producción de CLA (*cis9-trans11*) y en la composición de la leche.**

	Dhiman <i>et al</i> (1999)		Ward <i>et al</i> (2003)			
	1/3P	2/3P	PT	50%	65%	80%
Producción de leche (Kg/día)	24.5	17.5	14.5	30.3	26.1	21.9
% de proteína	2.9	2.73	2.86	3.37	3.22	3.14
% de grasa	3.51	3.64	3.37	3.42	3.91	3.71
Acidos grasos (mg/g grasa)						
Linoléico C18:2	42.7	27.1	14.0	19.1	21.5	20.3
Linolénico C18:3	8.1	14.6	20.2	3.7	4.1	5.2
CLA	8.9 <sup>c</sup>	14.3 <sup>b</sup>	22.1 <sup>a</sup>	15.7 <sup>b</sup>	16. <sup>b</sup>	19 <sup>a</sup>
Vaccénico <i>Cis</i> 11 C18:1				24.6 <sup>c</sup>	27.5 <sup>b</sup>	34.7 <sup>a</sup>

1/3P= 1/3 Pastoreo, 2/3P= 2/3 Pastoreo, PT= Pastoreo Completo P<0.001; 50%, 65%, 80% forraje como % de la materia seca P<0.05

Cuando la materia seca se suministró con pastura en porcentajes de 50, 65 y 80% de la materia seca se encontró que los niveles de ALC y de ácido vaccénico en la leche de vacas Holstein aumentaba al incrementar el consumo de materia seca proveniente de la pastura. La producción de leche disminuyó y no se encontraron diferencias significativas en los % de proteína y de grasa (Tabla 3). La materia seca restante fue heno de alfalfa, maíz y soya tostada. Al igual que en el trabajo de Dhiman (1999) la pastura era un asociación gramínea-leguminosa y estaba compuesta por *Dactylis glomerata* pequeñas cantidades de *Phleum pratense*, *Bromus inermis*, *Festuca arundinacea* y *Lotus corniculatus*. La composición de la pastura fué 11.9% de proteína cruda, 59.8% de FDN y 37.8% de FDA (Ward, *et al.* 2003).

White, *et al.* (2001) encontraron un incremento de 83% en los niveles de ALC en la leche de vacas bajo un sistema de pastoreo con *Digitaria sanguinalis* / *Trifolium repens* (90/10) sobre la concentración de ALC de animales alimentados con TMR. Los niveles de ALC encontrados fueron más bajos comparados con otros estudios (7.2mg/g de grasa para vacas Holstein en pastoreo y 5.9mg/g de grasa para vacas Jersey).

Schroeder, *et al.* (2003) compararon los niveles de ALC en leche de vacas Holstein alimentadas con TMR vs vacas que pastoreaban avena con un suplemento de maíz o maíz y sales de calcio de ácidos grasos (62% C18:1 y C18:2, 13.5% 18:0). Los niveles de ALC fueron mayores en animales en pastoreo y aumentaron con el tiempo de suplementación, los mayores niveles de ALC se obtuvieron a la semana 5 con las sales de calcio (19.1 mg/g de ácido graso). Cuando las vacas lecheras se alimentaron con ensilaje de pasto (*Phleum pratense* y *Festuca pratensis*) *ad libitum* y un suplemento (10 Kg) de un concentrado a base de cereales, los niveles de ALC fueron más bajos que los obtenidos por otros experimentadores en pastoreo (22.1 vs 4.6 mg/g de grasa). (Ryhanen, *et al.*, 2004). Esto puede explicarse por cambios en los patrones de biohidrogenación que dependen del pH ruminal.

La edad del forraje tiene un efecto en los niveles lacteos de ALC. El pastoreo de forrajes en estados tempranos de crecimiento producen un alto nivel de ALC en la grasa de la leche si se compara con pastoreos tardíos o de segundos cortes (Chouinard, 1998). La duración del pastoreo tiene un efecto sobre los niveles de vaccénico *trans-11* y *cis-9,trans-11* ALC en la leche; cuando se ha pastoreado durante 4 semanas se ha mostrado un incremento mayor al 100% en estos 2 compuestos y cuando se continúa hasta 8 semanas se puede aumentar en 500% (Loor, *et al.* 2002). Lock y Garnsworthy. (2002) utilizando vacas con cánulas duodenales encontraron que el flujo de ALC y vaccénico al intestino era mayor cuando se alimentaban vacas con una dieta basal suplementada con C18:2 y C18:3.

Kolver, *et al.* (2002) utilizando fermentadores continuos demostraron que la adición de C18:2 a forrajes (pasturas) de alta calidad aumentaba en 15 veces la concentración de ALC y 5 veces la de ácido transvaccénico en el fluido ruminal. Al adicionar C18:3 los incrementos fueron menores, de 5 veces para el ALC y 4 veces para transvaccénico. Esto confirma que el ALC en rumen se sintetiza a partir del ácido linoléico (C18:2).

Los estudios anteriores demuestran claramente que la leche de animales en pastoreo tiene mayores niveles de ALC que con otros sistemas de alimentación.

Esto puede explicarse por los mayores contenidos de ácido linoléico y ácido linolénico en los forrajes, substratos para la síntesis ruminal ALC y del precursor endógeno de ALC, el ácido vaccénico.

**Almidones.** El efecto del almidón en los niveles de ALC puede explicarse por cambios en los patrones de biohidrogenación. Como se mencionó anteriormente, dietas bajas en almidones favorecen el crecimiento de *Butyribrio fibrisolvens* y *Selenomas ruminatium* que son las que producen mayores porcentajes de ácido vaccénico, precursor del ALC. Esto fue demostrado por Fujimoto, *et al.* (1993) quien incubó ácido linoléico con estos microorganismos aislados de ovejas. La presencia de almidones en la dieta (baja fibra) disminuye el pH favoreciendo el crecimiento de otros microorganismos como *Pseudomonas* y *Propionobacterium* que favorecen la formación de isómeros *trans*-10 a partir de los cuales no es posible sintetizar ALC endogenamente. Este tipo de bacterias se han aislado de ciegos de ratón y en incubaciones *in vitro* se han encontrado isómeros *trans*-10 a partir de los ácidos linoléico y linolénico (Vehulst, *et al.*, 1987). Adicionalmente experimentos *in vitro* utilizando cultivos continuos mostraron que cuando el pH se disminuye a 5.0 no se detecta ALC ni C18:1 *trans*-11 (Yurawecs, *et al.* 2002). Por lo tanto, dietas ricas en almidones (cereales, concentrados ricos en almidones) con bajos niveles de fibra producirán menores concentraciones de ALC en la leche.

**Lípidos.** La adición de lípidos a las dietas de los rumiantes se puede hacer mediante grasa animal, grasas y aceites vegetales derivados de oleaginosas y aceites marinos. Las grasas animales son ricas en ácidos grasos de cadena larga y saturada con un punto de fusión alto, pueden ser blancas o amarillas y normalmente se les llama sebo cuando su punto de fusión supera los 38 °C (Palmquist, 1988). En el caso de estas grasas, los ácidos grasos que las componen son principalmente palmítico, palmitoleico, esteárico y oleico y linoléico en bajas proporciones. Los aceites vegetales son ricos en ácidos grasos insaturados como oleico y linoléico y en menor proporción linolénico. Los aceites marinos derivados de peces, plancton, y algas son ricos en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga principalmente C20:5 (EPA) y C22:6 (DHA) (Chilliard, *et al.* 2001). La suplementación de lípidos se hace en forma de grasas no protegidas, grasas protegidas, sales de calcio, ácidos grasos individuales o mezclas, y semillas procesadas o sin procesar.

El efecto de la suplementación con aceites vegetales, sebos y aceites de pescado sobre los niveles de ALC ha sido estudiado por varios investigadores. También se han utilizado grasas y aceites protegidos; las grasas o los aceites se

pueden proteger por emulsificación y encapsulación en una matriz de formaldehído y proteína para evitar la lipólisis y la biohidrogenación en el rumen (Hobson y Stewart, 1997) Normalmente los efectos de la adición de lípidos protegidos en los perfiles de ácidos grasos depende de los perfiles de estos mismos y la eficiencia en la protección que generalmente no supera el 65% calculada in vivo (Storry, *et al.* 1980).

**Aceites vegetales.** Al incluir soya cruda partida (18% de la MS), soya cocinada partida (18% MS), aceite de soya (3.6% MS) o aceite de lino (2.2% y 4.4 % MS) en una ración de silo de alfalfa y silo de maíz, se encontró que los niveles de ALC en la leche fueron significativamente mayores para las dietas que contenían aceite de soya o aceite de lino comparados con el grano entero. Aunque se encontraron diferencias en los % de grasa en la leche, no hubo diferencias en el total de la grasa en la leche (Dhiman, *et al.*, 2000). Estos resultados sugieren que la adición de aceites a la ración produce mayores niveles de ALC que el grano entero (soya) debido a la mayor disponibilidad de los ácidos grasos a la acción de los microorganismos del rumen. Adicionalmente, los niveles de ALC en leche están relacionados con los ácidos grasos insaturados presentes en el suplemento (Tabla 5).

En otra investigación realizada por Chouinard, *et al.* (2001), se alimentaron vacas Holstein con una ración que contenía ensilaje de pastura (22.5%), ensilaje de maíz (22.5%), maíz partido (37.2%) y torta de soya (18.5%) suplementada con sales de calcio de aceites de canola, soya y lino al 4%. Los niveles de ALC encontrados en la leche fueron 13.2 y 22.5 y 19.5 mg de ALC/ g de ácido graso para las sales de calcio del aceite de canola, soya y lino, respectivamente. Agenas, *et al.* (2002) encontraron que la suplementación de 500 o 1000 g de aceite parcialmente hidrogenado aumentó la concentración de ALC en leche en un 85.7%.

En un estudio realizado por Kelly, *et al.* (1998) se alimentaron vacas Holstein con una dieta de silo de maíz, henolaje mixto, grano de maíz y torta de soya. Las dietas fueron suplementadas con aceites de oleaginosas (5.3% MS) que aportaban diferentes proporciones de ácidos grasos insaturados. En este estudio, se obtuvieron niveles de ALC entre 8.0 y 50 mg/g grasa en la leche de vacas suplementadas con aceite de girasol con un promedio de 24.4 mg/g y se obtuvieron menores variaciones entre animales con la suplementación con aceite de lino. Se puede concluir que los niveles ALC dependen del tipo de dieta, de la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados de 18 carbonos adicionados y del grado de biohidrogenación en el rumen.

**Tabla. 5. Efecto de la suplementación con aceites sobre los niveles de CLA en la leche.**

Aceite	Acidos grasos g/100g de aceite			CLA en leche mg/g de grasa		
	C18:1	C18:2	C18:3			
Canola	58.5	23.0	7.7	13.2 <sup>3</sup>		
Maní	51.5	30.2	—	13.3 <sup>1</sup>		
Soya	21.1	50.1	9.0	20.4 <sup>2</sup>	22.5 <sup>3</sup>	
Girasol	21.2	69.4	—	24.4 <sup>1</sup>		
Lino	22.7	15.4	51.4	16.7 <sup>1</sup>	16.9 <sup>2</sup>	19.5 <sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kelly *et al.*, 1998. <sup>2</sup>Dhiman *et al.*, 2000. <sup>3</sup>Chouinard *et al.*, 2001.

En cuanto al efecto de los ácidos grasos insaturados en la dieta, sobre los niveles de ALC en presencia de altas cantidades de concentrado, Piperova, *et al.* (2000) realizaron un ensayo en vacas lecheras que se alimentaban con una dieta que contenía 75% de MS como concentrado y un suplemento de aceite de soya al 5% de la materia seca. El contenido de grasa de la leche se redujo y se encontraron niveles menores de ALC *cis-9,trans-11* que en la dieta sin suplementar. A pesar de que el aceite de soya tiene un porcentaje de ácidos grasos insaturados de 81%, principalmente ácido linoléico, la disminución del pH ruminal favorece la biohidrogenación hacia la producción del *trans-10* que es precursor del *trans-10,cis-12* que reduce la grasa de la leche y adicionalmente no produce ALC endogenamente. Lawless, *et al.* (1998) encontraron que la suplementación de vacas en pastoreo con soya y colza aumentaba las concentraciones de ALC (24.3 y 61%) con respecto al control. El reemplazo parcial de maíz por sales de calcio de ácidos grasos oleico y linoléico (32 y 30%, respectivamente) en el concentrado que se utilizó como suplemento para vacas lecheras aumentó la concentración de ALC en 173% en comparación con vacas en pastoreo suplementadas con un concentrado a base de maíz y 366% comparado con vacas que recibían TMRs (Schroeder, *et al.* 2003). Al alimentar vacas lecheras con una dieta basada en ensilaje de pasto y suplementada con concentrado a base de cereales (10 Kg) y 50 g de aceite de colza se encontró un aumento en los niveles de ALC en la leche con respecto a la dieta sin aceite de colza (Ryhanen, *et al.*, 2004).

Estas investigaciones han mostrado que moléculas de ácidos grasos *trans*-10 C18:1 son potentes inhibidores de la síntesis de grasa de la leche y que el isómero *trans*-10,*cis*-12 ALC inhibe la síntesis del isómero *cis*-9,*trans*-11 ALC en la grasa de la leche (Chouinard, *et al.* 1999, Baumgaard, *et al.* 2000, Loor y Herbein, 2002, Giesy, *et al.* 2002).

**Sebo.** Chouinard, *et al.* (2001) demostraron que la adición de sebo en niveles de 2.2 y 4.5% a una dieta de ensilaje de maíz, henolaje de alfalfa y maíz partido, no aumentaba los niveles de ALC en la leche de vacas Holstein. Los niveles máximos de ALC encontrados fueron 4.9 mg/g de grasa para la dieta de 4.4% de sebo, que son bajos comparados con los que se obtienen cuando se adicionan aceites. En otro ensayo, se alimentaron vacas Jersey y Holstein con dietas a base de ensilaje de maíz, ensilaje de alfalfa y concentrado. Las raciones fueron suplementadas con sebo o soya tostada al 3% y 15% de la materia seca respectivamente, con niveles bajos y normales de cobre. Los mayores niveles de ALC en la leche de vacas Jersey se obtuvieron con la dieta suplementada con sebo y niveles bajos de cobre y en vacas Holstein con la dieta suplementada con soya y baja en cobre. Según los autores el efecto prooxidante del cobre promueve la oxidación del ALC disminuyendo sus niveles (Morales, *et al.* 2000).

**Aceites de pescado.** Los aceites de pescado tienen una gran variación en las proporciones de ácidos grasos. Esta depende de la especie, de las condiciones geográficas y estacionales. La concentración de ácido eicosapentaenoico (EPA) (C20:5 n-3) puede variar entre 4 y 32% y la de docosahexaenoico (DHA) (C22:6 n-3) entre 2 y 25%. La producción de ALC o *trans*-11 directamente por la biohidrogenación ruminal de ácidos grasos poliinsaturados como EPA y DHA es improbable. Sin embargo, el aceite de pescado incrementa el C18:1 *trans*-11 en el rumen y en la leche y también disminuye la relación ALC: *Trans*-11 (Lacasse, 1998). Se ha encontrado que la suplementación con aceite de pescado (50-100 g/día) disminuye la concentración de grasa en leche. Cuando se suplementan dietas de silos, henos y henolajes con aceites marinos (200-300 gr/día), se incrementan los niveles de ALC obteniendo hasta 26 mg/g de grasa (Chilliard, *et al.* 1999). Al reemplazar sebo por aceite de pescado en un suplemento adicionado a una dieta a base de maíz, ensilaje de maíz, ensilaje de alfalfa, heno de alfalfa y torta de soya; se observó un aumento lineal en los niveles de ALC en la leche desde 11.0 hasta 22.4 mg/g grasa (Jones, *et al.* 2000).

AbuGhazaleh, *et al.* (2003a, 2003b) adicionaron aceite de pescado y otras fuentes ácidos grasos con diferente grado de insaturación, a una dieta de heno de alfalfa, ensilaje de maíz, y maíz partido. Estos autores encontraron mayores niveles de

ALC y vaccénico en la leche con 1% de aceite de pescado y ácido linoléico, seguido por ácido linolénico, oléico y esteárico (17, 11.2, 9.9, 7.1 mg de ALC/g de grasa, respectivamente). En otro experimento realizado por los mismos autores en el 2004 se adicionó soya extruida y aceite de pescado a la misma dieta. Se obtuvieron niveles de ALC de 11.6 vs 3.3 mg/g de grasa para la dieta sin adición de aceite. En este experimento se incrementó la producción de leche y los niveles de ALC y vaccénico en la leche alcanzando un máximo nivel en la semana 3 del experimento y decreciendo a la semana 5 donde se estabilizaron (AbuGhazaleh, *et al.* 2004). Estos autores proponen que los grasos poliinsaturados de cadena larga del aceite de pescado, pueden aumentar los niveles ruminales de vaccénico y los niveles de ALC en la leche por inhibición del crecimiento e bacterias que reducen el *trans* vaccénico o de sus enzimas reductasas.

Al alimentar vacas Pardo Suizo y Holstein con una dieta de heno de alfalfa ensilaje de maíz, grano de maíz y torta de soya, suplementada con algas marinas (*Schizochytrium sp.*) ricas en ácido palmítico, oleico y linoléico) protegidas y no protegidas al 4%, se obtuvieron niveles de ALC en la leche de 23.1 mg/g de grasa para la dieta con algas protegidas y 26.2 mg/g de grasa para las no protegidas (Franklin, *et al.* 1999). Los resultados obtenidos sugieren que aunque la síntesis endógena es más importante, hay una contribución del ALC proveniente del rumen.

## Conclusiones

El ALC *cis-9,trans-11* es el isómero más abundante de un grupo de ácidos grasos de 18 carbonos con enlaces conjugados que se encuentra en la grasa de la leche y tiene propiedades nutraceuticas. Debido a la actividad biológica de este compuesto, se ha investigado ampliamente en los últimos años para tratar de aumentar sus niveles en leche a través de la manipulación de la dieta.

Aunque los primeros estudios indicaban que el ALC lácteo provenía de la isomerización ruminal del ácido linoléico, estudios posteriores demostraron que el 90% del ALC se sintetiza en la glándula mamaria por acción de la delta 9 desaturasa sobre el ácido vaccénico ruminal C18:1 *trans-11*. Este compuesto se forma en el rumen a partir del ácido linoléico y del ácido linolénico, y por lo tanto dietas con altos contenidos de estos compuestos producen mayores niveles de ALC. Sin embargo, cuando el pH ruminal es bajo se disminuye la cantidad de ácido vaccénico se incrementa el isómero conjugado *trans-10,cis-12* que disminuye la grasa de la leche.

Se ha encontrado que se producen mayores niveles de ALC cuando las vacas están bajo pastoreo y cuando se suplementan con aceites con altos contenidos de linoléico y linolénico como los aceites de soya, girasol y lino; mientras la adición de sebo que contiene ácidos grasos saturados no incrementa los niveles de ALC. Los aceites de pescado han mostrado ser, en cantidades equivalentes, más efectivos que los aceites vegetales en aumentar los niveles de ALC en la leche, los aceites de pescado contienen altas cantidades de ácido eicosapentaenoico (EPA) (C20:5 n-3) y de docosahexaenoico (DHA) (C22:6 n-3) y aunque no es posible obtener transvaccénico a partir de estos ácidos grasos se ha observado el incremento del *trans*-11 en el rumen y en la leche. Se ha propuesto que los grasos poliinsaturados de cadena larga del aceite de pescado, pueden aumentar el vaccénico por inhibición del crecimiento de bacterias que reducen el *trans* vaccénico o de sus enzimas reductasas.

La determinación de los niveles de ALC y el efecto, que obre éstos ejercen nuestros sistemas de producción debe ser un objetivo en la investigación en Colombia ya que no se conoce nada sobre ese tema.

## Referencias

- AbuGhazaleh, A. A., Shingoethe, D. J., Hippen, A. R., and Kalscheur, K. F. 2003a. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acid profiles. *J. Dairy Sci.* 86:944-953.
- AbuGhazaleh, A. A., Shingoethe, D. J., Hippen, A. R., and Kalscheur, K. F. 2003b. Conjugated linoleic acid and vaccenic acid in rumen, plasma, and milk of cows fed fish oil and fats differing in saturation of 18 carbon fatty acids. *J. Dairy Sci.* 86:3648-3660.
- AbuGhazaleh, A. A., Shingoethe, D. J., Hippen, A. R., and Kalscheur, K. F. 2004. Conjugated linoleic acid increases in milk when cows fed fish meal and extruded soybeans for an extended period of time. *J. Dairy Sci.* 87:1758-1766.
- Agenas, S., Holtenius, K., Griinari, M., Burstedt, E. 2002. Effects of turnout to pasture and dietary fat supplementation on milk fat composition and conjugated linoleic acid in dairy cows. *Acta Agr. Scand. Sec. A Animal Science* 52: 2533.
- Banni, S., and J. C. Martin. 1998. Conjugated linoleic acid and metabolites. In: J. J. Sebedio and Christie (Ed.) *Trans Fatty Acids in Human Nutrition*. pp 261-302. Oily Press, Dundee, Scotland.
- Bauman, D., J. Griinari. 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: Low-Fat syndrome. *Livest. Prod. Sci.* 70:15-29.
- Bauchart, D., Vérité, R., Rémond, B., 1984. Long chain fatty acid digestion in lactating cows fed fresh grass from spring to autumn. *Can. J. Anim. Sci.* 64 (Suppl.), 330-331.
- Baumgard, L. H., Corl, B. A., Dwyer, D. A., Saebo, A., and Bauman, D. E. 2000. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *Am. J. Physiol.* 278: R179-R184.
- Belury, M. A. 1995. Conjugated dienoic linoleate: A polyunsaturated fatty acid with unique chemoprotective properties. *Nutr. Rev.* 53:83-89.
- Bickerstaffe, R., and Johnson A.R. 1972. The effect the intravenous infusions of sterculic acid on milk fat synthesis. *Br. J. Nutr.* 27:561-570.
- Chilliard, Y., Chardigny, J. M., Chabrot, J., Ollier, A., Sebedio, J. L., Doreau, M., 1999. Effects of ruminal or postruminal fish oil supply on conjugated linoleic acid (ALC) content of cow milk fat. *Proc. Nutr. Soc.* 58:70A.
- Chilliard Y., A. Ferlay, M. Doreau. 2001. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cows diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (ALC) and polyunsaturated fatty acids. *Liv. Production Sci.* 70 :31-48.
- Chin, S.F., Liu, W., Storkson, J.M., Ha, Y.L., Pariza, M.W. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Comp. Anal.* 5:185-197.
- Chouinard, P. Y., Girard, V., and Brisson, G. J. 1998. Fatty acid profile and physical properties of milk fat from cows fed calcium salts of fatty acids with varying unsaturation. *J. Dairy Sci.* 81:471-481.

- Chouinard, P. Y., Comeau, L., Saebo, A., and Bauman, D. E. 1999. Milk yield and composition during abomasal infusion of conjugated linoleic acids in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:2737-2745.
- Chouinard, P. Y., Comeau, L., Butler, B. R., Chilliard, Y., Drackley, J. K., and Bauman, D. E. 2001. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *J. Dairy Sci.* 84:680-690.
- Dhiman T. R., G. R. Anand, L. D. Satter and M. W. Pariza 1999. Conjugated Linoleic Acid Content of milk from cows fed Different Diets. *J. Dairy Sci.* 82: 2146-2156.
- Dhiman T. R., L. D. Satter and M. W. Pariza, Galli, M. P., Albright, K., and Tolosa, M. X. 2000. Conjugated Linoleic Acid (ALC) Content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.* 83: 1016-1027.
- Franklin, S.T., Martin, K.R., Baer, R.J. Schingoethe, D.J. and Hippen, A.R. 1999. Dietary marine algae *Schizochytrium sp.* Increases concentrations of conjugated linoleic, docosahexanoic and *trans*vaccenic acids in milk of dairy cows. *J. Nutr.* 129:2048-2052.
- Fujimoto, K., Kimoto, H., Shishikura, M., Endo, Y., and Ogimoto, K. 1993. Biohydrogenation of linoleic acid by anaerobic bacteria isolated from rumen. *Bioscience Biotechnol. Biochem.* 57:1026-1027.
- Garton, G. A. 1960. Lipid metabolism in the rumen. In: P.N. Hobson (Ed.) *The Rumen Microbial Ecosystem.* p. 384 Elsevier Applied Science Publishers, London.
- Giesy, J. G., McGuire, M. A., Shafii, B., and Hanson, T. W. 2002. Effect of dose of calcium salts of conjugated linoleic acid (ALC) on percentage and fatty acid content of milk fat in mid lactation Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 85:2023-2029.
- Griinari, J.M., Dwyer, D.A., McGuire, M.A., Bauman, D.E., Palmquist, D.L., and Nurmela, K.V.V. 1998. *Trans* octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows, *J. Dairy Sci.* 81:1251-1261.
- Griinari, J. M., and D. E. Bauman. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: M. P. Yurawecz, M. M. Mossoba, J. K. G. Kramer, M. W. Pariza, and G. J. Nelson (Ed.) *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Vol. 1. pp 180-200. AOCS Press, Champaign, IL.
- Griinari, J.M., Corl, B.A., Lacy, S.H. Chouinard, P.Y., Nurmela, K.V.V. and Bauman, D. E. 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by D9 desaturase. *J. Nutr.* 130: 2285-2291.
- Harfoot, C. G., and G. P. Hazlewood. 1988. Lipid metabolism in the rumen. In: P.N. Hobson (Ed.) *The Rumen Microbial Ecosystem.* pp 285-322. Elsevier Applied Science Publishers, London.
- Herrera, J. A., Shahabuddin, AKM., Faisal, M., Ersheng, G., Wei, J., Lixia, D., Gandaho, T., López, P. 2004. Efectos de la suplementación oral con calcio y ácido linoléico conjugado en primígravidas de alto riesgo. *Colombia médica* Vol.35 N.1
- Hobson P.N., Stewart, C.S. *The Rumen Microbial Ecosystem.* pp 382-426. Elsevier Applied Science Publishers, London.
- Jenkins, T.C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 76:3851-3863
- Jensen, R.G. 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *J. Dairy Sci.* 85: 295-350.
- Jones, D. F., Weiss, W. P., and Palmquist, D. L. 2000. Short communication: Influence of dietary tallow and fish oil on milk fat composition. *J. Dairy Sci.* 83:2024-2026.
- Kay, J.K., Mackle, T.R., Auldust, M.J., Thomson, N.A. and Bauman, D.E. 2004. Endogenous synthesis of *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. *J. Dairy Sci.* 87:369-378.
- Kemp, P. and Lander, D.J. 1984. Hydrogenation in vitro of  $\alpha$ -linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 130: 527-533.
- Kelly, M.L., Kolver, E.S., Bauman, D.E., Van Amburgh M.E., and Muller, L.D. 1998. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81:1630-1636.
- Kelsey, J.A., Corl, B.A., Collier, R.J., and Bauman, D.E. 2003 The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (ALC) in milk fat from dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:2588-2897.
- Kolver, E. S., de Veth, M. J., Roche, J. R., Chand, A., 2002. Enhancing ruminal concentration of conjugated linoleic acid and *trans* vaccenic acid (abstract). *J. Dairy Sci.* 85:103.
- Lacasse, P., Kennelly, J. J., Ahnadi, C. E., 1998. Feeding protected and unprotected fish oil to dairy cows: II. Effect on milk fat composition. *J. Anim. Sci.* 76 (suppl. 1), 231.
- Lawless, F., Murphy, J. J., Harrington, D., Devery, R., and Stanton, C. 1998. Elevation of conjugated *cis*-9, *trans*-11 octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation. *J. Dairy Sci.* 81:3259-3267.
- Lin, H., T. D. Boylston, M. J. Chang, L. O. Luedecke, and T. D. Shultz. 1995. Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. *J. Dairy Sci.* 78:2358-2365.
- Lock, A. L., and Gamsworthy, P. C., 2002. Independent effects of dietary linoleic and linolenic fatty acids on the conjugated linoleic acid content of cows milk. *Society of Animal Sci.* 163-171
- Loor, J. J., Herbein, J.H., Polan, C.E., 2002. *Trans* 18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat of grazing cows fed a grain supplement containing solvent-extracted or mechanically extracted soybean meal. *J. Dairy Science* 85:1197-1207.
- Medeiros, S. R., Oliveira, D. E., Aroeira, L. J. M., McGuire, M. A., and Lanna, D. P. D. 2000. The effect of long-term supplementation of conjugated linoleic acid (ALC) to dairy cows grazing tropical pastures. *J. Dairy Sci.* 83(suppl 1):169. Abstr.
- Morales, M. S., Palmquist, D. L., and Weiss, W. P. 2000. Effects of fat source and copper on unsaturation of blood and milk triacylglycerol fatty acids in Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 83:2105-2111.

- Palmquist D. L., 1998. Feed Science. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. p. 293.
- Pariza, M. W., Hargreaves, W. A. 1985. A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7,12-dimethylbenzanthracene. *Carcinogenesis* Vol. 6 no.4:591-593.
- Piperova, L. S., Teter, B. B., Bruckental, I., Sampugna, J., Mills, S. E., Yurawecz, M. P., Fritsche J., Ku, K., and Erdman, R. A. 2000. Mammary lipogenic enzyme activity, *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. *J. Nutr.* 130: 2568-2574.
- Piperova, L. S., Sampugna, J., Teter, B. B., Kalscheur, K. F., Yurawecz, M. P., Ku, K., Morehouse, K. M., and Erdman, R. A. 2002. Duodenal and milk *trans* octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (ALC) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of *cis*-9-containing ALC in lactating dairy cows. *J. Nutr.* 132: 1235-1241.
- Roughan, P. G., and Batt, R. D. 1969. Lipid metabolism in the rumen. In: P.N. Hobson (Ed.) *The Rumen Microbial Eco-system*. p. 384 Elsevier Applied Science Publishers, London.
- Ryhanene, E.L., Tallavaara, K., Griinari, J.M., Jaakkola, S., Mantere-Alhomen, S. and Shingfield, K.J. 2004. Production of conjugated linoleic acid enriched milk and dairy products from cows receiving grass silage supplemented with a cereal-based concentrate containing rapeseed oil. *International Dairy Journal* ( In press)
- Scimeca, J. A. 1999. Cancer inhibition in animals. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Volume 1, Eds. Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W., Nelson, G.J. AOCS press, Illinois, Chapter 34: 420-443.
- Sehat, N., J. K. G. Kramer, M. M. Mossoba, M. P. Yurawecz, J. A. G. Roach, K. Eulitz, K. M. Morehouse, and Y. Ku. 1998. Identification of conjugated linoleic acid isomers in cheese by gas chromatography, silver ion high performance liquid chromatography and mass spectral reconstructed ion profiles. Comparison of chromatographic elution sequences. *Lipids* 33:963-971.
- Shorlan, B. F., Weenink, R.O and Jhons, A. T. 1955. Effect of the rumen on dietary fat. *Nature* (lond), 175, 1129. citado por Harfoot, C. G., and G. P. Hazlewood. 1988. Lipid metabolism in the rumen. In: P.N. Hobson (Ed.) *The Rumen Microbial Eco-system*. pp 285-322. Elsevier Applied Science Publishers, London.
- Schroeder, G. F., Delahoy, J. E., Vidaurreta, I., Bargo, F., Gagliostro, G. A., and Muller, D. L., 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.
- Singh, S. and Hawke, J. C. 1979. The in vitro lipolysis and biohydrogenation of monogalactosylglyceride by whole rumen contents and its fractions. *J. Sci. Food Agric.* 30:603-612.
- Storry, J. E., Brumby, P. E., Tuckley, B., Welch, V. A., Stead, D., Fulford, R. J. 1980. Effect of feeding protected lipid to dairy cows in early lactation on the composition of blood lipoproteins and secretion of fatty acids in milk. *J. Agric. Sci.* 94: 503-516
- Tanaka, K., and Shigeno, K. 1976. The biohydrogenation of linoleic acid by rumen microorganisms. *Jpn. J. Zootech. Sci.* 47:50-53.
- Tremolieres, A. 1970 Lipid metabolism in the rumen. In: P.N. Hobson (Ed.) *The Rumen Microbial Eco-system*. p. 384 Elsevier Applied Science Publishers, London.
- Vehulst, A., Janssen, G., Parmentier, G., and Eyssen, H. 1987. Isomerization of polyunsaturated long chain fatty acids by Propionibacteria In: M. P. Yurawecz, M. M. Mossoba, J. K. G. Kramer, M. W. Pariza, and G. J. Nelson (Ed.) *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Vol. 1. pp 180-200. AOCS Press, Champaign, IL.
- Ward, A. T., Wittenberg, K. M., Froebe, H. M., Przybylski, R., and Malcolmson, L. 2003. Fresh forage and soya supplementation on conjugated linoleic acid levels in plasma and milk. *J. Dairy Sci.* 86:1742-1750
- White, S.L., Bertrand, J.A., Wade, M.R., Washburn, S.P., Green, J.T., and Jenkins, T.C. 2001. Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 84:2295-2301.
- Yurawecz, M. P., Mossoba, M. M., Kramer, J. K. G., Pariza, M. W. and Nelson, G. L. (Ed.) 1999. *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Vol. 1. pp 180-200. AOCS Press, Champaign, IL.