

# Perfil de ácidos grasos en leche de búfalas alimentadas con pastura natural y suplementadas con aceites de girasol y pescado

Patiño, E.M.<sup>1</sup>; Lértora, J.W.<sup>2</sup>; Villordo, G.I.<sup>2</sup>; Valenzuela, K.M.<sup>1</sup>; Sánchez-Negrette, M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cátedra Tecnología de los Alimentos, <sup>2</sup>Cátedra Patología General y Sistemática, Facult. Ciencias Veterinarias, Univ. Nacional Nordeste, Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina. Tel: +54 (379) 4425753.

E-mail: leche@vet.unne.edu.ar

## Resumen

**Patiño, E.M.; Lértora, W.J.; Villordo, G.I.; Valenzuela, K.M.; Sánchez-Negrette, M.: Perfil de ácidos grasos en leche de búfalas alimentadas con pastura natural y suplementadas con aceites de girasol y pescado. Rev. vet. 28: 1, 19-26, 2017.** El objetivo del estudio fue evaluar el perfil de ácidos grasos (AG) y la calidad nutricional de la leche de búfalas suplementadas con aceites de girasol y pescado. Ocho búfalas de raza Mediterránea fueron suplementadas con 300 ml/día de una mezcla de aceites de girasol y pescado (210 y 90 ml, respectivamente), durante 60 días. Se tomaron muestras de leche los días 0, 24 y 60 y se analizó el perfil de AG mediante cromatografía gaseosa. La suplementación durante 24 días indujo un significativo aumento de las concentraciones de ácidos ruménico, vaccénico y  $\alpha$ -linolénico en 398, 420 y 29%, respectivamente. Las concentraciones de ácidos grasos saturados (AGS) se redujeron 26%; la reducción de los ácidos láurico, mirístico, palmítico y esteárico fue del 45, 49, 22 y 33%, respectivamente. La suplementación lipídica de 60 días redujo de manera significativa ( $p=0,0089$ ) las concentraciones de ácido ruménico, cuando se comparó con el día 24. En cuanto a los índices de calidad de la grasa, la suplementación con aceites durante 24 días redujo los índices basales de aterogenicidad (IA) y trombogenicidad (IT) ( $p<0,0001$ ), aumentó la relación basal de AG hipo/hipercolesterolémicos (h/H) ( $p=0,0008$ ) y no modificó la relación  $\omega 6/\omega 3$  ( $p=0,2443$ ). Luego de 60 días de suplementación IA, IT y Rh/H aumentaron de manera significativa ( $p=0,0159$ ,  $0,0016$  y  $0,0301$  respectivamente) cuando se compararon con el día 24. Se concluye que la suplementación ensayada produjo una leche con un perfil de AG más adecuada para el consumo humano, con menor contenido de AGS y tenores elevados de ácidos grasos insaturados (vaccénico, ruménico y  $\alpha$ -linolénico). Los cambios del perfil de AG fueron acompañados con IA e IT reducidos, e incremento en la relación h/H. Sin embargo, los altos niveles de ácido ruménico y vaccénico declinaron con la suplementación prolongada, al mismo tiempo que aumentaron IA e IT.

**Palabras clave:** búfala, suplementación, aceites de girasol y pescado, ácidos grasos en leche.

## Abstract

**Patiño, E.M.; Lértora, W.J.; Villordo, G.I.; Valenzuela, K.M.; Sánchez-Negrette, M. Milk fatty acid profile from grazing buffaloes fed a blend of sunflower and fish oils. Rev. vet. 28: 1, 19-26, 2017.** The aim of the study was to evaluate the fatty acids profile and the nutritional quality of buffaloes milk fed with natural pasture and supplemented with a mixture of sunflower and fish oils. Eight multiparous Mediterranean buffaloes were supplemented with 300 ml/day of a mixture of sunflower and fish oils (210 and 90 ml, respectively) mixed with ground corn, during 60 days. Milk samples were taken on day 0, 24 and 60 and analyzed for fatty acids profile by gas chromatography. The lipid supplementation during 24 days induced a significant increase of the concentrations of rumenic, vaccenic and  $\alpha$ -linolenic acids in 398, 420 and 29%, respectively. Basal concentrations of saturated fatty acids decreased 26%, the drops of the lauric, myristic, palmitic and stearic acids were 45, 49, 22 and 33%, respectively. The lipid supplementation during 60 days significantly reduced ( $p=0,0089$ ) the rumenic acid, when compared to day 24. With regard to the nutritional quality of the fat, the supplementation with the oil-blend during 24 days significantly decrease the basal atherogenicity (AI) and thrombogenicity (TI) indexes ( $p<0.0001$ ), increased the basal hypocholesteromic/hypercholesterolemic ratio (h/H) ( $p=0.0008$ ) and did not change the  $\omega 6/\omega 3$  relationship ( $p=0,2443$ ). After 60 days AI, TI and Rh/H significantly increased

( $p=0.0159$ ,  $0.0016$  and  $0.0301$ , respectively) when compared to day 24. We conclude that by the lipid supplementation a bubalin milk with a fatty acids profile more suitable for human consumption is obtained, with lower contents of saturated fatty acids and elevated tenors of unsaturated fatty acids. Such changes in the fatty acids profile were accompanied by reduced atherogenic and thrombogenic indexes, and increase in the h/H relationship. However, the high levels of vaccenic and rumenic acids in milk declined with the prolonged supplementation and were accompanied by an increase in the AI and TI.

**Key words:** buffaloe, supplementation, sunflower and fish oils, milk fatty acids.

## INTRODUCCIÓN

Disminuir los niveles de ácidos grasos saturados (AGS) e incrementar los insaturados (AGI) como oleico (C18:1  $\omega$ 9), ruménico (*cis*-9, *trans*-11 C18:2), vaccénico (*trans*-11 C18:1) y  $\alpha$ -linolénico (C18:3  $\omega$ 3) en la leche y sus productos, ha reportado efectos saludables en las personas<sup>10, 18, 19, 25</sup>. Estas modificaciones en el perfil de ácidos grasos (AG) de la leche han sido explorados en vacas<sup>22, 24</sup>, cabras<sup>4, 7</sup>, ovejas<sup>26</sup> y búfalas<sup>9, 16</sup> mediante suplementación lipídica con diferentes aceites vegetales, solos o en combinación con aceite de pescado.

Los aceites vegetales aportan a la dieta de los rumiantes AGI oleico, linoleico (C18:2  $\omega$ 6) y  $\alpha$ -linolénico, los cuales sirven de sustrato para la síntesis ruminal, mediante isomerización e hidrogenación bacteriana, de AGI ruménico, vaccénico y otros isómeros *trans* C18:1 y *trans* C18:2<sup>23</sup>. Aportar aceite de pescado a la dieta estimula un mayor incremento del ácido ruménico y vaccénico en la leche<sup>28</sup>, porque los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI)  $\omega$ 3 de cadena muy larga inhiben la subsecuente reducción ruminal de los AG ruménico y vaccénico a AG esteárico (C18:0)<sup>23</sup>. En las búfalas, el perfil de AG de la leche ha sido modificado mediante el empleo de aceites de soja<sup>16</sup>, de soja + lino y de mostaza<sup>9</sup>. Sin embargo, el efecto de combinar aceites de pescado + girasol sobre la composición de AG en la leche de búfalas es desconocido.

El objetivo del presente trabajo consistió en determinar las modificaciones de los AGS y AGI (oléico, vaccénico, ruménico,  $\alpha$ -linolénico y linoléico) y evaluar la calidad nutricional de la grasa láctea en la leche de búfalas alimentadas con pastura natural y suplementadas diariamente con una mezcla de aceite de pescado + girasol.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Lugar geográfico, animales y suplementos dietarios.** La experiencia se realizó durante los meses de abril, mayo y junio del año 2014, en el tambo "Tacuarendí" ubicado en el Municipio de Santa Ana de los Guácaras, departamento de San Cosme, Provincia de Corrientes, Argentina. Se utilizaron 8 búfalas de raza Mediterránea, de 2° a 7° lactancia, seleccionadas del total de animales que cuenta el establecimiento.

Las búfalas, alimentadas con pastura natural, fueron suplementadas durante 60 días con 300 ml/día de

una mezcla de aceites de girasol (210 ml) y pescado (90 ml), vehiculizada en 2 kg de maíz molido, administrado en comederos individuales durante el ordeño. En los días 0, 24 y 60 de la suplementación, se tomaron 100 ml de leche de cada una de las búfalas, a fin de determinar el perfil de AG.

Las muestras de leche fueron congeladas (-20°C) hasta su envío al laboratorio del Centro de Desarrollo de Alimentos Funcionales de la Facultad de Agroindustrias de la Universidad Nacional del Chaco Austral (UnCAUS). La Tabla 1 registra el perfil de AG de los aceites de girasol y de pescado utilizados para la suplementación. El aceite de pescado contenía 85% de merluza argentina (*Merluccius hubbsi*) y 15% de anchoa (*Anchoa mardinii*).

**Análisis de ácidos grasos en leche.** Se determinaron los AGS e AGI oléico (C18:1 $\omega$ 9), vaccénico (*trans*-11 C18:1), ruménico (*cis*-9, *trans*-11 C18:2),  $\alpha$ -linolénico (C18:3 $\omega$ 3) y linoléico (C18:2  $\omega$ 6). Para extraer los lípidos totales se utilizó una mezcla de cloroformo y metanol manteniendo atmósfera de nitrógeno. La conversión de los AG en metilésteres se llevó a cabo con NaOH y BF<sub>3</sub> metanólico al 14% a ebullición durante 7 minutos. Los metilésteres se extrajeron con hexano y se analizaron con un cromatógrafo gaseoso.

Se utilizaron estándares de metilésteres de AG de 99% de pureza (Lipid Standard 189-19 Sigma-Aldrich). La composición de ácidos grasos se obtuvo en un cromatógrafo gaseoso de la firma Agilent equipado con una columna capilar de 60 m de largo y 0,25 mm de diámetro interno (Supelco 2340) y un detector de ionización de llama. El método de cromatografía gaseosa utilizado (GC-FID) se adecuó a la norma ISO 15304.

**Evaluación nutricional de la grasa.** Fue realizada por la técnica de Barros (2013)<sup>2</sup> mediante el IA:  $[IA = \frac{[(C12:0) + (4 \times C14:0) + (C16:0)]}{[(AGPI \omega-6 + AGPI \omega-3) + (AGMI)]}]$ , IT:  $[IT = \frac{(C14:0 + C16:0 + C18:0)}{[(0,5 \times AGMI) + (0,5 \times AGPI \omega-6) + (3 \times AGPI \omega-3) + (AGPI \omega-3/AGPI \omega-6)]}]$ , la relación entre AG hipocolesterolémicos e hipercolesterolémicos:  $[h/H = \frac{C18:1 \omega 9 + AGPI \omega-6 + AGPI \omega-3}{C12:0 + C14:0 + C16:0}]$  y la relación entre AGPI  $\omega-6$  y AGPI  $\omega-3$   $[\omega-6/\omega-3 = \frac{AGPI \omega-6}{AGPI \omega-3}]$ .

**Análisis estadístico.** Las estadísticas descriptivas incluyeron media aritmética y desvío estándar. Los datos inferenciales fueron obtenidos con la prueba T de Student para muestras apareadas. El nivel de riesgo

alfa se fijó en 5%, por debajo del cual se rechazó la hipótesis nula de igualdad.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La suplementación con la mezcla de aceite de girasol + pescado promovió modificaciones en el perfil de los AG en la leche de las búfalas, caracterizados por una reducción del contenido de AGS C4:0 a C18:0 y un incremento en los AG vaccénico, ruménico y  $\alpha$ -linolénico (Tabla 2).

La suplementación lipídica indujo un descenso de los valores basales de AGS del 26% y 23% en la leche luego de 24 y 60 días de suplementación, respectivamente. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores<sup>9,16</sup>, que registraron una reducción en el contenido de los AGS en la leche de búfalas luego de ser suplementadas con aceite de soja (2,21% de materia seca ingerida)<sup>16</sup> y con mostaza (39% de torta de mostaza + 2% de aceite de mostaza)<sup>9</sup>.

La composición de AG del aceite de girasol y del aceite de pescado (Tabla 1) pudieron ser los principales responsables de la respuesta observada. El aporte dietético de los AG oleico, linoleico, y  $\alpha$ -linolénico sirven de sustrato para la síntesis ruminal, mediante isomerización e hidrogenación bacteriana, de AG *trans* C18:1 y *trans* C18:2. Su subsecuente reducción ruminal

a ácido esteárico puede ser inhibida por la adición de AGPI  $\omega$ 3, de cadena muy larga, presente en el aceite de pescado<sup>23</sup>.

Como resultado hay un incremento de *trans* 18:1 y *trans* 18:2, los cuales tienen propiedades antilipogénicas (inhibidores de la síntesis *de novo* de AGS) en la glándula mamaria<sup>23</sup>. Esto explica la reducción de los AGS en la leche de las búfalas, registrada luego de 24 y 60 días de la suplementación lipídica.

La reducción del ácido butírico (C4:0) puede ser interpretada como un efecto negativo para la calidad de la leche; ya que tiene efecto anti-cancerígeno. Los valores basales de AG láurico (C12:0), mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0) se redujeron 45, 49 y 22%, respectivamente, luego de 24 días de suplementación; sin registrarse diferencias entre los días 24 y 60. Esto favorece el valor nutricional de la leche, ya que dichos AGS incrementan la concentración sanguínea de colesterol total en las personas<sup>15</sup>.

Las concentraciones basales del ácido esteárico se redujeron 35% luego de 24 días de suplementación, sugiriendo que la suplementación lipídica inhibió la biohidrogenación ruminal de C18:1 y C18:2. Dicho efecto inhibidor disminuyó luego de 60 días de suplementación, ya que los valores del ácido esteárico se incrementaron, tendiendo a retornar a sus valores basales (Tabla 2). Este resultado favorece la calidad nutricional

**Tabla 1.** Perfil de ácidos grasos (mg/g de grasa) en aceites de pescado y girasol.

ácidos grasos			aceite de pescado	aceite de girasol
saturados		Mirístico (C14:0)	31,38	0
		Pentadecílico (C15:0)	4,08	0
		Palmítico (C16:0)	140,37	51,31
		Margárico (C17:0)	6,84	0
		Esteárico (C18:0)	18,77	25,75
		Araquídico (C20:0)	0	6,83
		Behénico(C22:0)	8,16	0
		Tricosílico(C23:0)	11,81	0
		Lignocérico(C24:0)	153,80	3,72
insaturados	monoinsaturados	Palmitoléico(C16:1)	55,85	0
		Margaroléico(C17:1)	6,11	0
		Nervónico(C24:1)	2,81	0
		Oléico (C18:1 $\omega$ 9)	150,35	250,85
	poliinsaturados	Linoléico (C18:2 $\omega$ 6)	13,24	425,78
		$\alpha$ -Linolénico(C18:3 $\omega$ 3)	74,16	4,35
		<i>cis</i> -10, <i>cis</i> -12c CLA ( <i>c</i> -10, <i>c</i> -12 C18:2)	27,18	0
		Dihomo- $\delta$ - Linolénico (C20:3 $\omega$ 6)	0	14,85
		Araquidónico (C20:4 $\omega$ 6)	5,02	0
		Eicosapentaenoico (EPA) (C20:5 $\omega$ 3)	2,40	0
		Docosapentaenoico (DPA) (C22:5 $\omega$ 3)	10,12	0
		Docosahexaenoico (DHA) (C22:6 $\omega$ 3)	171,14	0
$\Sigma$ Saturados			375,23	87,62
$\Sigma$ Monoinsaturados			215,14	250,85
$\Sigma$ Poliinsaturados			303,28	444,98
$\Sigma$ Poliinsaturados n6			45,45	440,63
$\Sigma$ Poliinsaturados n3			247,70	4,35
$\Sigma$ Trans			0	0

**Tabla 2:** Perfil de ácidos grasos (mg/g de grasa) en leche de búfalas según tiempo de suplementación lipídica.

ácidos grasos (mg/g de grasa)		día 0 (basal)	día 24	día 60	día 0:24	p valor* día 0:60	día 24:60
Saturados	Butírico (C4:0)	22,63 ± 5,48	12,53 ± 3,16	13,64 ± 3,54	0,0004	0,0070	0,5456
	Caproico (C6:0)	5,12 ± 0,96	2,13 ± 2,05	2,47 ± 1,19	<0,0001	0,0017	0,4186
	Capríco (C10:0)	3,87 ± 0,58	1,40 ± 0,47	1,78 ± 0,65	<0,0001	0,0002	0,2222
	Láurico (C12:0)	6,67 ± 0,92	3,62 ± 0,60	3,78 ± 1,29	<0,0001	0,0011	0,6971
	Mirístico (C14:0)	44,08 ± 6,54	22,47 ± 4,41	25,25 ± 6,44	0,0002	0,0007	0,3979
	Pentadecanóico (C15:0)	10,56 ± 1,70	6,92 ± 0,99	6,98 ± 1,53	0,0009	0,0076	0,9274
	Palmitico (C16:0)	158,01 ± 26,94	122,69 ± 20,18	127,69 ± 24,27	0,0271	0,0589	0,7170
	Heptadecanóico (C17:0)	10,08 ± 1,55	5,42 ± 1,09	6,07 ± 1,47	0,0002	0,0019	0,3173
	Esteárico (C18:0)	129,43 ± 20,09	84,10 ± 19,7	108,14 ± 25,32	0,0033	0,1784	0,0914
	Araquídico (C20:0)	8,62 ± 1,84	8,9 ± 2,9	12,00 ± 2,27	0,8116	0,0417	0,0405
Insaturados	M Palmitoléico (C16:1)	4,24 ± 1,33	6,95 ± 1,75	6,60 ± 1,92	0,0008	0,0452	0,7636
	M Vaccénico ( <i>trans</i> -11 C18:1)	30,08 ± 5,46	156,62 ± 27,60	122,16 ± 41,37	<0,0001	0,0004	0,1332
	M Oléico (C18:1 $\omega$ 9)	127,57 ± 20,53	126,17 ± 28,32	142,17 ± 24,36	0,9118	0,2938	0,2401
	P Linoléico (C18:2 $\omega$ 6)	8,29 ± 1,09	7,46 ± 1,41	9,41 ± 1,37	0,2024	0,1139	0,0700
	P $\alpha$ -linoléico (C18:3 $\omega$ 3)	8,47 ± 2,23	10,93 ± 1,99	12,49 ± 1,98	0,0471	0,0067	0,2167
	P Ruménico ( <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 C18:2)	3,53 ± 1,55	17,61 ± 2,96	11,45 ± 2,20	<0,0001	0,0001	0,0089
	P c10,c12 CLA ( <i>cis</i> -10, <i>cis</i> -12 C18:2)	-	2,23 ± 1,39	1,89 ± 0,80	0,0027	0,0003	0,4974
	$\Sigma$ Saturados	401,83 ± 55,28	270,09 ± 46,95	307,81 ± 62,53	0,0020	0,0291	0,2759
$\Sigma$ Monoinsaturados	161,89 ± 23,86	289,74 ± 48,69	270,92 ± 54,22	0,0002	0,0022	0,5578	
$\Sigma$ Poliinsaturados	20,28 ± 2,95	38,24 ± 6,87	35,24 ± 5,06	0,0002	0,0003	0,4657	
$\Sigma$ Poliinsaturados $\omega$ 6	8,29 ± 1,09	9,70 ± 2,42	11,30 ± 1,80	0,1918	0,0084	0,2361	
$\Sigma$ Poliinsaturados $\omega$ 3	8,47 ± 2,23	9,93 ± 4,32	12,49 ± 1,98	0,0471	0,0067	0,2167	
$\Sigma$ Trans	33,61 ± 5,58	174,23 ± 29,55	133,61 ± 43,11	<0,0001	0,0003	0,1057	

\* Prueba T de Student bilateral para muestras apareadas. M: monoinsaturado, P: poliinsaturado.

de la leche bubalina, porque el ácido esteárico demostró inducir trombosis vía activación plaquetaria y estimulación de la coagulación<sup>5</sup>.

Las concentraciones basales de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) se incrementaron 71% y 67% luego de 24 y 60 días de suplementación, respectivamente. Dicho incremento fue atribuido a una significativa elevación de los niveles basales del ácido vaccénico; que registró incrementos del 420% y 306% luego de 24 y 60 días de suplementación, respectivamente (Tabla 2). El incremento del ácido vaccénico se debe a la biohidrogenación ruminal de los AGPI<sup>23</sup> que fueron aportados por la suplementación lipídica (Tabla 1). Dicho resultado fue superior al obtenido (220% de aumento) por nuestro grupo de investigación (Gagliostro *et al.*: Arq. Bras. Med. Vet. 67: 927, 2015) en búfalas suplementadas con aceite de soja + lino, al registrado (59% de incremento) en búfalas suplementadas con aceite de soja<sup>16</sup> y al aumento (77%) registrado en búfalas suplementadas con aceite de mostaza<sup>9</sup>.

Esta mayor respuesta, quizás se debió al empleo del aceite de pescado; ya que los AGPI  $\omega$ 3 de cadena muy larga presentes en dicho aceite (Tabla 1) inhiben la reducción del ácido vaccénico a esteárico<sup>23</sup>. El incremento del ácido vaccénico mejora la calidad nutricional de la grasa láctea, ya que es el sustrato para la síntesis de ácido ruménico por la  $\Delta$ -9 desaturasa en los tejidos de los seres humanos<sup>17</sup>.

En nuestra experiencia, las concentraciones basales de ácido oleico no fueron modificadas (Tabla 2); pese a que la suplementación aportó 401,2 mg de ácido oleico/g de grasa (Tabla 1). Otros investigadores consiguieron incrementar el ácido oleico en leche de vacas suplementadas con aceite de girasol; debido a un mayor aporte dietético de este AG, como también a un incremento en su síntesis en glándula mamaria, a partir de un incremento de su precursor, el ácido esteárico<sup>2</sup>.

En trabajos anteriores se consiguió incrementar los niveles de ácido oléico en la leche de búfalas luego de una suplementación con aceite de soja<sup>16</sup>. Por el contrario, nuestro grupo (Gagliostro *et al.*, 2015), registró una reducción del ácido oleico en leche de búfalas suplementadas con una mezcla de aceite de soja + lino; atribuyendo dicho descenso a una alta biohidrogenación ruminal de este AG y a una disminución en su síntesis en glándula mamaria, por inhibición de la enzima  $\Delta$ -9 desaturasa mediado por los AG *trans*.

Quizás estos efectos expliquen la ausencia de respuesta en los niveles de ácido oleico de la presente experiencia. Además, el descenso de su precursor, el ácido esteárico (Tabla 2) pudo contribuir a la falta de incremento del ácido oleico en leche de las búfalas. La ausencia de incremento de este AG puede ser considerada desfavorable para la calidad nutricional de la grasa láctea bubalina. El ácido oleico tiene efectos favorables en la salud de las personas, disminuye los

niveles plasmáticos de colesterol-LDL y de triglicéridos<sup>8,15</sup>. Además, torna al endotelio menos sensible a la estimulación por citocinas, disminuyendo la actividad de moléculas de adhesión VCAM-1<sup>5</sup>.

Las concentraciones basales de AGPI se incrementaron 81 y 73% luego de 24 y 60 días de suplementación, respectivamente. Los valores basales de ácido ruménico se incrementaron 398% y 224% luego de 24 y 60 días de la suplementación, respectivamente. Los valores del ácido ruménico disminuyeron significativamente el día 60 de suplementación, cuando se comparó con el día 24 (Tabla 2).

Las concentraciones de ácido ruménico en la carne y leche de los rumiantes dependen de dos procesos: la biohidrogenación ruminal del ácido linoleico y la desaturación endógena del ácido vaccénico por la enzima  $\Delta$ -9 desaturasa de los tejidos<sup>16</sup>. Dicho incremento fue atribuido al contenido de ácido linoleico del aceite de girasol, que sirvió de sustrato para su síntesis ruminal, y a los AGPI (C20:5  $\omega$ 3, C22:5  $\omega$ 3 y C22:6  $\omega$ 3) del aceite de pescado (Tabla 1), que inhibieron la total reducción del ácido vaccénico a esteárico<sup>23</sup>.

En la presente investigación, el aumento del ácido ruménico fue superior al incremento registrado (188%) en búfalas suplementadas con una mezcla de aceite de soja + lino (70:30 wt/wt, a razón de 4,42% de materia seca ingerida); al incremento del 174% registrado en búfalas suplementadas con 2% de aceite de mostaza y al incremento del 102% registrado en búfalas suplementadas con aceite de soja (2,21% de materia seca ingerida)<sup>9,16</sup>. Tal incremento mejora la calidad nutricional de la grasa láctea bubalina, ya que este AG ha demostrado tener efecto anticancerígeno, hipocolesterolémico, anti-inflamatorio y antioxidante en animales de laboratorio<sup>13,21</sup>.

La reducción en los ácidos vaccénico y ruménico en la leche registrados el día 60 de la suplementación, concuerda con los reportes de los cambios temporales de estos AG en la leche de vacas suplementadas con aceites de pescado<sup>1,22,28</sup>. La prolongada (4 semanas) suplementación lipídica resultó en una disminución de las concentraciones de ácido vaccénico, ruménico y AG  $\omega$ 3 en leche de vacas suplementadas con 2% (del total de materia seca ingerida) de una mezcla (50:50) de aceite de pescado + soja, cuando fue comparada con la semana 2 de la misma experiencia<sup>28</sup>.

En otra experiencia, vacas suplementadas con 5,5% de harina de pescado + 10,64% de granos molidos de soja durante 10 semanas, registraron un incremento en las concentraciones de ácido ruménico y vaccénico luego de la primer semana de suplementación, alcanzando su nivel máximo en la semana 3, y declinando gradualmente hasta la semana 5, luego permanecieron constantes, a niveles significativamente superiores al control, hasta el final de la experiencia (semana 10)<sup>1</sup>.

De la misma forma, vacas suplementadas con 45 g de una mezcla (1:2 wt/wt) de aceites de pescado y girasol/kg de materia seca, registraron un rápido incremento en el contenido de ácido ruménico (5,37 g/100g de

ácidos grasos) en la leche, alcanzando su máximo nivel el día 5 de la dieta. Pero este incremento fue transitorio, declinando (2,35 g/100 g de ácidos grasos) hasta el día 15, permaneciendo relativamente constantes, a niveles significativamente superiores al control, hasta el final de la suplementación (día 28). La concentración de ácido vaccénico siguió el mismo patrón de cambios temporales que el ácido ruménico<sup>22</sup>.

Esta declinación en los niveles del ácido ruménico y vaccénico fue atribuida a cambios en la biohidrogenación ruminal dependientes del tiempo, que resultaron en un reemplazo de *trans*-11 por *trans*-10 C18:1 como el mayor intermediario del metabolismo ruminal del ácido linoleico<sup>22</sup>. El mecanismo de estos cambios temporales en las vías de biohidrogenación ruminal es desconocido. Es probable que esta alteración esté relacionada con cambios en el número y/o actividad enzimática de poblaciones bacterianas específicas inducidas por los AGPI del aceite de pescado y aceites vegetales<sup>1,22</sup>.

En nuestra experiencia, el efecto del tiempo sobre la concentración de los AG ruménico y vaccénico resultó en una reducción de las concentraciones de los mismos; aunque fueron >3 y >4 veces mayor, respectivamente, al final de la experiencia (día 60) con respecto a los valores basales. Además, la suplementación con aceite de girasol + pescado indujo un progresivo incremento a través del tiempo de suplementación de otros isómeros de *trans* C18:1 (principalmente *trans*-10 C18:1) y *trans* C18:2, en la leche de vacas<sup>22</sup>.

Esto resulta preocupante, porque hay creciente evidencia experimental que indicaría que los AG *trans* de origen rumiante, cuando se consumen en altas dosis, tienen el mismo efecto que los AG *trans* industriales<sup>3,12,20,25</sup>. Un sustancial incremento de ácidos grasos *trans* en la grasa láctea aumentó de manera significativa los triglicéridos séricos, el colesterol-total y el colesterol-LDL en los seres humanos<sup>12,25</sup>; y perjudicaron el metabolismo de las lipoproteínas (incrementaron el colesterol sérico asociada a lipoproteínas LDL y redujeron las lipoproteínas HDL) que favorecieron el desarrollo de lesiones ateroscleróticas en los conejos<sup>3,20</sup>.

La suplementación lipídica no tuvo efecto sobre la concentración basal del ácido linoléico (C18:2 $\omega$ 6) (Tabla 2). Este resultado concuerda con los obtenidos en búfalas suplementadas con aceite de soja, con una mezcla de aceites de soja + lino y con aceite de mostaza<sup>9,16</sup>. A pesar de la disponibilidad de este AG (439 mg/g de grasa) aportada con la suplementación (Tabla 1), su incorporación a la leche fue insignificante, probablemente, debido a su extensa biohidrogenación ruminal; como lo corrobora el incremento de los AG ruménico y vaccénico. Mantener los niveles de este AG puede ser considerado beneficioso para la calidad nutricional de la grasa. Si bien este AGPI reduce los niveles de colesterol sérico, su efecto protector probablemente sea solo evidente cuando su consumo es moderado<sup>27</sup>, ya que el mismo es precursor, mediante elongación y desaturación en los tejidos, del ácido araquidónico y sus eicosanoides que pueden incrementar la agregación plaque-

**Tabla 3.** Evaluación del valor nutricional de la grasa en leche de búfalas según tiempo de suplementación lipídica.

variables	día 0	día 24	día 60	día 0:24	*p valor día 0:60	día 24:60
IA	1,92 ± 0,24	0,65±0,14	0,79 ± 0,06	<0,0001	<0,0001	0,0159
IT	2,99 ± 0,37	1,32±0,20	1,45 ± 0,06	<0,0001	<0,0001	0,0016
h/H	0,72 ± 0,10	0,96±0,14	1,09 ± 0,17	0,0008	0,0016	0,0301
AGPI $\omega 6/\omega 3$	1,01 ± 0,21	0,89 ± 0,18	0,90 ± 0,07	0,2443	0,2402	0,7629

\*Prueba T de Student bilateral para muestras apareadas. IA: índice de aterogenicidad. IT: índice de trobogenicidad. h/H: relación entre AG hipocolesterolémicos e hipercolesterolémicos. AGPI  $\omega 6/\omega 3$ : relación entre AGPI  $\omega 6$  y AGPI  $\omega 3$ .

taria, promover la inflamación y aumentar el riesgo de aterosclerosis <sup>8, 14</sup>.

Las concentraciones basales del ácido  $\alpha$ -linolénico (C18:3 $\omega 3$ ) se incrementaron 29 y 47% luego de 24 y 60 días de suplementación, respectivamente (Tabla 2). Este resultado concuerda con el obtenido por investigadores que reportaron un incremento del ácido  $\alpha$ -linolénico en leche de búfalas suplementadas con aceite + torta de mostaza <sup>9</sup>.

Por el contrario, difiere con el obtenido por miembros de nuestro grupo de trabajo encabezados por Gagliostro (2015), quienes reportaron una reducción en los niveles del ácido  $\alpha$ -linolénico en leche de búfalas suplementadas con una mezcla de aceites de soja + lino; atribuido a su extensa biohidrogenación ruminal y a la moderada eficiencia de transferencia de este AG a la leche. Por otra parte, el incremento del ácido  $\alpha$ -linolénico es considerado favorable; ya que puede convertirse en ácido eicosapentanoico (AEP) y ácido docosahexaenoico (ADH) en los tejidos, con efectos antiinflamatorio, anti-trombótico y relajante vascular, disminuyendo los niveles de colesterol-LDL y protegiendo a las células del daño oxidativo <sup>5</sup>.

Los IA e IT de la leche se redujeron significativamente luego de la suplementación lipídica. En el día 60 se registró un incremento en los IA e IT, cuando se comparó con el día 24 (Tabla 3). Esta reducción de los IA e IT ocurrió por la disminución de los AG láurico (C12:0), mirístico (C14:0), palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0), y por el incremento de los AGMI y AGPI; como fue previamente reportado en crema y manteca elaborados con leche de vacas suplementadas con 11,2% de semilla de girasol <sup>24</sup> y suplementadas con 1,5%, 3% y 4,5% de aceite de soja <sup>2</sup>.

Estos resultados son respaldados por nosotros, que con Gagliostro (2015) también observamos una reducción en el IA luego de suplementar búfalas con una mezcla de aceites de soja + lino durante 26 días. En la presente experiencia el IA se redujo 66% en el día 24, siendo esta reducción mayor a la reportada anteriormente por nuestro grupo, de 47%, cuando se suplementaron las búfalas con 572 g/d de una mezcla de aceites de soja + lino (70:30, wt/wt) durante 26 días.

Cuanto menores son los valores de los IA e IT de un alimento, menor es la cantidad de AG pro-aterogénicos y pro-trombogénicos y mayor es la cantidad de AG considerados benéficos para la salud humana; por lo tanto, mayor es el potencial de ese alimento de prevenir

las enfermedades cardiovasculares <sup>2</sup>. De esta forma, la reducción de los IA e IT en la leche bubalina luego de la suplementación lipídica mejoró la calidad nutricional de la grasa, haciéndola más adecuada para el consumo humano.

La suplementación lipídica de las búfalas aumentó la relación h/H de la leche (Tabla 3). Cuando mayor es la relación entre ácidos grasos hipocolesterolémicos e hipercolesterolémicos de un alimento, más adecuada nutricionalmente es la grasa para el consumo humano. Es decir, mayor es el potencial del perfil de ácidos grasos del alimento para prevenir aumentos del colesterol sérico, principalmente del colesterol LDL, y consecuentemente las enfermedades cardiovasculares <sup>2</sup>. En la presente experiencia, la suplementación con aceite de girasol + pescado aumentó 33% y 51% la relación h/H luego de 24 y 60 días, respectivamente; por lo tanto, mejoró la calidad nutricional de la leche bubalina.

La relación AGPI  $\omega 6/\omega 3$  de la leche no fue modificada significativamente por la suplementación lipídica (Tabla 3). En trabajos anteriores (Gagliostro 2015) reportamos un incremento del 34% y 48% de la relación AGPI  $\omega 6/\omega 3$  basal luego de suplementar búfalas con dosis bajas (276g/día) y altas (572g/día), de una mezcla de aceites de soja + lino. Por el contrario, en otros trabajos se reportó una reducción del 11% en la relación AGPI  $\omega 6/\omega 3$  basal en leche de búfalas suplementadas con aceite de soja <sup>16</sup>.

La conversión del AG  $\alpha$ -linolénico (C18:3 $\omega 3$ ) en AEP y ADH en el organismo, es fuertemente influenciada por los niveles de AG linoléico (C18:2 $\omega 6$ ) en la dieta; ya que compiten por las enzimas involucradas en la desaturación y elongación de sus cadenas. Una dieta con elevada relación AGPI  $\omega 6/\omega 3$  resulta en una disminución en la producción de AEP y ADH, condición que contribuye a la presentación de enfermedades alérgicas, inflamatorias y cardiovasculares; pues el exceso de AGPI  $\omega 6$  aumenta la formación de prostanoideos de la serie 2, desfavorables para el organismo <sup>11</sup>.

Por ello, la relación entre AGPI  $\omega 6$  y  $\omega 3$  presente en los alimentos asume gran importancia en la salud humana. Según la FAO, la relación entre ácido linoléico y  $\alpha$ -linolénico en la dieta debería estar comprendida entre 5 y 10 <sup>6</sup>.

En conclusión, la suplementación con aceite de girasol + pescado resultó efectiva para reducir los niveles de AG saturados e incrementar las concentraciones de los ácidos vaccénico, ruménico y  $\alpha$ -linolénico en

la leche de las búfalas. De esta manera, la suplementación mejora la calidad nutricional de la grasa láctea bubalina, haciéndola más apta para el consumo humano, reduciéndose los IA e IT, y aumentándose la relación h/H. Sin embargo, los altos niveles de ácido ruménico y vaccénico en la leche declinan con la suplementación prolongada (60 días), aunque continúan siendo significativamente superiores a los niveles basales.

**Agradecimientos.** A las entidades que brindaron apoyo económico, a los propietarios y personal del establecimiento “Tacuarendí” por facilitar animales e instalaciones y a la empresa “Omega Sur de Batán” (Mar del Plata) por suministrar gratuitamente el aceite de pescado.

## REFERENCIAS

1. **Abughazaleh AA, Schingoethe DJ, Hippen AR, Kalscheur KF.** 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.
2. **Barros PA, Glória MB, Lopes FC, Gama MA, Souza SM, Mourthé MH, Leão MI.** 2013. Qualidade nutricional e estabilidade oxidativa de manteigas produzidas do leite de vacas alimentadas com cana-de-açúcar suplementada com óleo de girassol. *Arch Bras Med Vet Zootec* 65: 1545-1553.
3. **Bauchart D, Roy A, Lorenz S, Chardigny JM, Ferlay A, Gruffat D, Sébédio JL, Chilliard DD.** 2007. Butters varying in trans 18:1 and cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid modify plasma lipoproteins in the hypercholesterolemic rabbit. *Lipids* 42: 123-133.
4. **Bernard L, Leroux C, Rouel J, Delavaud C, Shingfield KJ, Chilliard Y.** 2015. Effect of extruded linseeds alone or in combination with fish oils on intake, milk production, plasma metabolite concentrations and milk fatty acid composition in lactating goats. *Animal* 9: 810-821.
5. **Chechi K, Dubey P, Cheema SK.** 2006. Endothelial dysfunction and atherosclerosis: role of dietary fats. In: *Biochemistry of Atherosclerosis* (Cheema SK ed.), Springer, New York, p. 495-518.
6. **FAO.** 1994. *Fats and oils in human nutrition*. Report of a joint FAO/WHO expert consultation. FAO Food and Nutrition Paper 57, Rome, p. 3621-3627.
7. **Gagliostro GA, Rodríguez A, Pellegrini PA, Gatti P, Muset G, Castañeda RA, Colombo D, Chilliard Y.** 2006. Efectos del suministro de aceite de pescado solo o en combinación con aceite de girasol sobre las concentraciones de ácido linoleico conjugado (CLA) y omega 3 en leche de cabra. *Rev Arg Prod Anim* 26: 71-86.
8. **Haug A, Hostmark AT, Harstad OM.** 2007. Bovine milk in human nutrition: a review. *Lipids in Health & Disease* 6: 25.
9. **Kathirvelan C, Tyagi AK.** 2009. Conjugated linoleic acid content of milk from buffaloes fed a mustard oil-based diet. *Int J Dairy Techn* 62: 141-292.
10. **Malpuech C, Mouriou J, Boue C, Combe N, Peyraud JL, LeRuyet P, Chesneau G, Morio B, Chardigny JM.** 2010. Differential impact of milk fatty acid profiles on cardiovascular risk biomarkers in healthy men and women. *Eur J Clin Nutr* 64: 752-759.
11. **Martin CA, Almeida VV, Ruiz MR, Visentainer JE, Matshushita M, Souza NE, Visentainer JV.** 2006. Ácidos graxos poliinsaturados omega-3 e omega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Rev Nutr Campinas* 19: 761-770.
12. **Motard-Bélanger A, Charest A, Grenier G, Paquin P, Chouinard Y, Lemieux S, Couture P, Lamarche B.** 2008. Study of the effect of trans fatty acids from ruminants on blood lipids and other risk factors for cardiovascular diseases. *Am J Clin Nutr* 87: 593-599.
13. **Nagao K, Yanagita T.** 2005. Conjugated fatty acids in food and their health benefits. *J Biosci Bioeng* 100: 152-157.
14. **Nakamura YK, Flintoff N, Omaye ST.** 2008. Conjugated linoleic acid modulation of risk factors associated with atherosclerosis. *Nutr & Metab* 5: 22.
15. **Ohlsson L.** 2010. Dairy products and plasma cholesterol levels. *Food & Nutr Res* 54: 5124.
16. **Oliveira RL, Ladeira MM, Barbosa MA, Matsushita M, Santos GT, Bagaldo AR.** 2009. Composição química, perfil de ácidos graxos do leite e muçarela de búfalas alimentadas com diferentes fontes de lipídeos. *Arq Bras Med Vet Zootec* 61: 736-744.
17. **Parodi PW.** 2003. Conjugated linoleic acid in food. In: *Advances in conjugated linoleic acids in food* (Sebedio JL, Chirstie WW, Adloff R, eds), Vol.2, AOCS Press, Champaign (Illinois, USA), p.122.
18. **Pintus S, Murru E, Carta G, Cordeddu L, Batetta B, Accossu S, Pistis D, Uda S, Ghiani ME, Mele M, Secchiari P, Almerighi G, Pintus P, Banni S.** 2013. Sheep cheese naturally enriched in  $\alpha$ -linolenic, conjugated linoleic and vaccenic acids improves the lipid profile and reduces anandamide in the plasma of hypercholesterolaemic subjects. *Br J Nutr* 109: 1453-1462.
19. **Poppitt SD, Keogh GF, Mulvey TB, McArdle BH, MacGibbon AK, Cooper GJ.** 2002. Lipid-lowering effects of a modified butter-fat: a controlled intervention trial in healthy man. *Eur J Clin Nutr* 56: 64-71.
20. **Roy A, Chardigny JM, Bauchard D, Ferlay A, Lorenz S, Durand D, Gruffat D, Faulconnier Y, Sébédio JL, Chilliard Y.** 2007. Butters rich either in trans-10-C18:1 or in trans-11C18:1 plus cis-9, trans-11 CLA differentially affect plasma lipids and aortic fatty streak in experimental atherosclerosis in rabbits. *Animal* 1: 467-476.
21. **Sailas B, Spener F.** 2009. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits. *Nutr & Metab* 6: 36.
22. **Shingfield KJ, Reynolds CK, Hervás G, Griinari JM, Grandison AS, Beever DE.** 2006. Examination of persistency of milk fatty acid composition responses of fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. *J Dairy Sci* 89: 714-732.
23. **Shingfield KJ, Berbard L, Leroux C, Chilliard Y.** 2010. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal* 4: 1140-1166.

24. **Silva ER, Suarez MM, Herrera RG, Takuo N, Ozimek L, Verdalet I.** 2007. Alto contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche y productos derivados al incorporar semillas de girasol a la dieta vacuna. Implicaciones sobre el riesgo trombo/aterogénico. *Arch Latin Nutr* 2: 173-178.
25. **Tholstrup T, Raff M, Basu S, Nombae P, Sejrsen K, Straarup EM.** 2006. Effects of butter high in ruminant trans and monounsaturated fatty acids on lipoproteins, incorporation of fatty acids into lipid classes, plasma C-reactive protein, oxidative stress, hemostatic variables, and insulin in healthy young men. *Am J Clin Nutr* 83: 237-243.
26. **Toral PG, Frutos P, Hérvas G, Gómez P, Juárez M, Fuente MA.** 2010. Changes in milk fatty profile and animal performance in response to fish oil supplementation, alone or in combination with sunflower oil, in dairy ewes. *J Dairy Sci* 93: 1604-1615.
27. **Ulbricht TL, Southgate DA.** 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet* 338: 985-992.
28. **Whitlock LA, Schingoethe DJ, Hippen AR, Kalscheur KF, Baer RJ, Ramaswamy N, Kasperon KM.** 2002. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. *J Dairy Sci* 85: 234-243.

## Revista Veterinaria ingresa a SciELO



Revista Veterinaria, publicación oficial de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Nordeste (Corrientes, Argentina), ha logrado acceder al Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas (Nivel 1), luego de calificar adecuadamente en el Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT), según Resolución 2485/14 del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Sobre un puntaje máximo de 33 se obtuvieron 32 puntos. Tal calificación constituye “una garantía de la excelencia de la publicación” (sic) y queda expedita la vía del Portal SciELO (Scientific Electronic Library Online) para los artículos publicados.

En tal calificación gravitó positivamente la circunstancia de haber aumentado el índice de impacto (Scimago-Elsevier) y haber disminuido las autocitaciones. También se tuvieron en cuenta aspectos como la amplia cobertura de la revista, la calidad científica del Comité Editorial, los criterios de evaluación de los artículos, el origen de los autores (locales 60%, nacionales 13%, extranjeros 26%, en idioma inglés), el adecuado balance entre trabajos científicos originales y reseñas bibliográficas (ambos con alta calidad), así como el estricto cumplimiento de la periodicidad semestral y la favorable acogida por indizadores como Cab, Doaj, Ebsco, Gale Cengage, Infocyt, Latindex y Scopus.

Se consolida de esta manera la continuidad de “Revista Veterinaria”, que en su acontecer supera 50 años de existencia en nuestra Facultad, la cual en 2017 cumplió el 97° aniversario de su fundación.