

# Influencia del pastizal en la concentración de CLA y Omega 6 y 3 en leche de búfalas de Corrientes, Argentina\*

Patiño, E.M.<sup>1</sup>; Sánchez Negrette, M.<sup>1</sup>; Judis, M.A.<sup>2</sup>; Pochon, D.O.<sup>1</sup>; Cedrés, J.F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina. E-mail: exepa@vet.unne.edu.ar. <sup>2</sup>Facultad de Agroindustrias, Universidad Nacional del Chaco Austral, Sáenz Peña (Chaco, Argentina).

## Resumen

**Patiño, E.M.; Sánchez Negrette, M.; Judis, M.A.; Pochon, D.O.; Cedrés, J.F.: *Influencia del pastizal en la concentración de CLA y Omega 6 y 3 en leche de búfalas de Corrientes, Argentina*. Rev. vet. 21: 2, 136–139, 2010.** El objetivo del estudio fue investigar la influencia del pastizal natural sobre las concentraciones de ácido linoleico conjugado (CLA) y ácidos grasos Omega 6 y 3 en muestras de leche de búfala. Se realizaron dos ensayos durante 35 días con búfalas multíparas de razas Murrah y mestizas Murrah x Mediterránea, mantenidas sobre pastizal natural en primavera y otoño. El primero se realizó durante los meses de octubre y noviembre de 2007 con pastizal de primavera y régimen pluviométrico normal. El segundo entre los meses de mayo y junio de 2009, con pastizal de otoño y régimen pluviométrico menor. En promedio, los mayores valores de CLA (15,74 mg/g de grasa), Omega 6 (7,30 mg/g de grasa) y Omega 3 (4,45 mg/g de grasa), así como la más estrecha relación Omega 6/Omega 3 (1,64 : 1 mg/g de grasa), fueron obtenidos en primavera, bajo un régimen pluviométrico normal. En el nordeste argentino, donde los animales son mantenidos principalmente sobre campo natural, resulta importante destacar que las condiciones climáticas afectan el crecimiento del pastizal natural, provocando disminución de los valores de los ácidos grasos CLA y Omega 6 y 3.

**Palabras clave:** búfalo, pastizal, leche, CLA, Omega 6 y 3.

## Abstrac

**Patiño, E.M.; Sánchez Negrette, M.; Judis, M.A., Pochon, D.O., Cedrés, J.F.: *Influence of the natural pasture on the concentration of CLA and Omega 6 and 3 in milk of buffaloes from Corrientes, Argentina*. Rev. vet 21: 2, 136–139, 2010.** The aim of this study was to investigate the influence of natural pasture on the concentration of conjugate linoleic acid (CLA) and Omega 6 and 3 in buffalo milk samples. Two trials were conducted with multiparous buffaloes of Murrah breed and crossbred Murrah x Mediterranean, which received only natural pastures for 35 days during spring and autumn. The first trial was held between October–November 2007 with spring pasture, and the second one between May and July 2009 with autumn pasture. The highest average values in CLA (15.74 mg/g fat), Omega 6 (7.30 mg/g fat) and Omega 3 (4.45 mg/g fat) were obtained with the buffaloes fed on spring pasture. In both studies, the narrower Omega 6/Omega 3 ratio (1.64: 1 mg/g fat) was also obtained with the buffaloes fed on spring pastures. In Northeastern Argentina, where animals are feed on natural pastures, it is important that climate conditions affect the growth of green pastures, situation that causes a drop in CLA and Omega 6 and 3 levels when compared to those recorded during springtime.

**Key words:** buffalo, pasture, milk, CLA, Omega 6 y 3.

## INTRODUCCIÓN

CLA es el término usado para describir uno o más isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico (*cis*-9, *cis*-12, ácido octadecadienoico) conteniendo dobles ligaduras conjugadas. Tales ligaduras generalmente se encuentran en las posiciones 9 y 11, o 10 y 12,

puediendo ser de configuración *cis* o *trans*. La forma biológicamente activa del CLA estaría representada por el isómero *cis*-9, *trans*-11 CLA (llamado también ácido ruménico), el cual representa entre el 80 al 90% del total de CLA en la grasa de la leche <sup>1</sup>.

Los ácidos linoleico y linoléico son ácidos grasos esenciales, sintetizados por las plantas, pero no por los mamíferos. Deben por lo tanto ser aportados por la alimentación, siendo precursores de la síntesis de ácidos

grasos poliinsaturados de la serie omega 3 y omega 6 respectivamente <sup>6</sup>.

La fuente principal de CLA en la dieta humana es la leche y los subproductos lácteos, los cuales contienen principalmente *cis*-9, *trans*-11 C18:2 (ácido ruménico) y *trans*-9, *cis*-11 C18:2 <sup>6</sup>. Muchos factores pueden influir en el incremento de CLA en leche de búfalas como los estacionales <sup>15</sup> y el número de lactaciones <sup>17</sup> pero indudablemente la dieta animal es la que tiene mayor preponderancia <sup>2, 11, 13</sup>.

En ganado bubalino las investigaciones que determinaron CLA en leche en países como Italia <sup>5</sup>, Pakistán <sup>13, 14, 15</sup>, India <sup>16</sup>, Brasil <sup>4, 9, 10</sup> y Argentina <sup>11, 12, 17, 18</sup> obtuvieron valores disímiles debido a las diferentes dietas empleadas.

El objetivo del presente trabajo fue investigar si la alimentación sobre pastizal natural en dos épocas (primavera y otoño) de años y etapas de lactancia diferentes modifica las concentraciones de ácido linoleico conjugado (CLA) y ácidos grasos omega 3 y 6, así como la relación omega 6/3, en leche de búfalas producida en la Provincia de Corrientes (Argentina).

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Lugar geográfico, grupos experimentales y muestras.** Los animales utilizados pertenecían al rodeo de un establecimiento ubicado en el departamento de San Cosme (Latitud 27°, 22', 17"S; 58°, 30', 44"O.) a 35 km de la ciudad de Corrientes, Argentina. Se trabajó con 16 búfalas multíparas Murrah y mestizas Murrah x Mediterránea, identificadas con caravanas alfanuméricas y en el período correspondiente a la segunda etapa de lactación. Todos los animales fueron mantenidos sobre pastizal natural, el cual estaba compuesto mayoritariamente por especies como *Andropogon lateralis*, *A. sellononau*, *Cynodon dactylon*, *Elionorus sp*, *Paspalum notatum*, *P. almunchase*, *Sorghastrum agrostoides*, *Desmodium canum* y *Shylosanthes macrosoma*.

Las búfalas fueron ordeñadas manualmente por la mañana. Durante la rutina de ordeño y luego de eliminar los primeros chorros, se tomaron muestras de 200 ml de leche de cada animal, que fueron acondicionadas en recipientes descartables, congeladas a -20°C y mantenidas en cajas de poliuretano hasta su llegada al laboratorio. Se realizaron dos ensayos en primavera y otoño durante 35 días donde las búfalas fueron mantenidas sobre pastizal natural. El primero se realizó durante los meses de octubre y noviembre de 2007 con pastizal de primavera y régimen pluviométrico normal (promedio anual de lluvias de 1.054 mm). El segundo entre los meses de mayo y junio de 2009, con pastizal de otoño y régimen pluviométrico menor (promedio anual de lluvias de 727 mm).

**Técnicas de laboratorio.** Las muestras de leche (n = 16) fueron obtenidas

al inicio y al día 35 de la experiencia. Cada muestra fue procesada por duplicado para la obtención del perfil lipídico. Para extraer los lípidos totales se utilizó una mezcla de cloroformo y metanol de acuerdo con la técnica de Bligh and Dyer <sup>3</sup> manteniendo atmósfera de nitrógeno. La conversión de los ácidos grasos en metilésteres se llevó a cabo con NaOH y BF<sub>3</sub> metanólico al 14% a ebullición durante 8 minutos.

Los metilésteres se extrajeron con hexano y se analizaron con un cromatógrafo de fase gaseosa. Se utilizaron estándares de metilésteres de ácidos grasos de 99% de pureza (Lipid Standard 189–19 Sigma–Aldrich). La composición de ácidos grasos se obtuvo en un cromatógrafo de fase gaseosa 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 <sup>8</sup>.

**Análisis estadístico.** Se aplicó estadística descriptiva con el objeto de hacer una evaluación de los estimadores de las muestras para cada uno de los tratamientos (promedio, desvío estándar, coeficiente de variación y rangos mínimos y máximos). Se realizó un análisis de variancia con el objetivo de observar diferencias entre las variables en estudio, aplicando un diseño completamente aleatorizado y utilizando como co-variancia el valor inicial de la experiencia. Se verificaron los supuestos de normalidad, homocedestidad, paralelismo e independencia de las unidades, con un  $\alpha = 0,05$  para rechazar la hipótesis nula. Los cálculos fueron realizados con el auxilio del software Infostat (2010) <sup>7</sup>, de propiedad de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Nordeste.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Ácido linoleico conjugado (CLA).** El contenido de CLA de la leche de búfalas mantenidas sobre pastizal natural de ambos ensayos es presentado en la Tabla 1. El mayor valor de CLA se obtuvo con las búfalas del primer ensayo. Los valores de CLA disminuyeron un 75,66% en las búfalas mantenidas con pastizal de otoño respecto a las mantenidas con pastizal de primavera a los 35 días de la experiencia.

**Omega 6.** El contenido de ácidos grasos Omega 6 de la leche de búfalas mantenidas sobre pastizal natural

**Tabla 1.** Contenido de CLA (mg/g de grasa) en leche de búfalas sobre diferentes pastizales.

ensayo	días	n	media	DE	CV	mín	máx
primavera (2007)	35	8	15,74 <sup>a</sup>	5,77	36,66	7,85	23,91
otoño (2009)	35	8	3,83 <sup>b</sup>	1,14	29,28	2,27	5,13

DE: desvío estándar; CV: coeficiente de variación; min y max: rangos. Letras distintas indican diferencias significativas entre medias, p<0,05.

**Tabla 2.** Contenido de Omega 6 (mg/g de grasa) en leche de búfalas sobre diferentes pastizales.

ensayo	días	n	media	DE	CV	min	máx
primavera (2007)	35	8	7,30 <sup>a</sup>	1,95	26,65	4,72	9,93
otoño (2009)	35	8	3,82 <sup>b</sup>	0,80	20,21	2,34	4,45

DE: desvío estándar; CV: coeficiente de variación; min y max: rangos. Letras distintas indican diferencias significativas entre medias,  $p < 0,05$ .

**Tabla 3.** Contenido de Omega 3 (mg/g de grasa) en leche de búfalas sobre diferentes pastizales.

ensayo	días	n	media	DE	CV	min	máx
primavera (2007)	35	8	4,45 <sup>a</sup>	1,68	37,81	2,74	7,76
otoño (2009)	35	8	1,55 <sup>b</sup>	0,73	20,93	0,99	1,87

DE: desvío estándar; CV: coeficiente de variación; min y max: rangos. Letras distintas indican diferencias significativas entre medias,  $p < 0,05$ .

**Tabla 4.** Relación de ácidos grasos Omega 6/3 en leche de búfalas con diferentes pastizales.

ensayo (día 35)	Omega 6	Omega 3	relación 6/3
primavera (2007)	7,30	4,45	1,64 : 1
otoño (2009)	3,82	1,55	2,46 : 1

de ambos ensayos es presentado en la Tabla 2. El mayor valor se obtuvo con las búfalas del primer ensayo. Los valores de Omega 6 disminuyeron un 47,67% en las búfalas mantenidas con pastizal de otoño respecto a las mantenidas con pastizal de primavera a los 35 días de la experiencia.

**Omega 3.** El contenido de ácidos grasos Omega 3 de la leche de búfalas mantenidas sobre pastizal natural de ambos ensayos es presentado en la Tabla 3. El mayor valor se obtuvo con las búfalas del primer ensayo. Los valores de Omega 3 disminuyeron un 65,17% en las búfalas mantenidas con pastizal de otoño respecto a las mantenidas con pastizal de primavera a los 35 días de la experiencia.

**Relación Omega 6 y 3.** La relación Omega 6/3 en leche de búfalas mantenidas sobre pastizal natural de ambos ensayos es presentado en la Tabla 4. La relación más estrecha (1,64 : 1) se obtuvo con las búfalas del primer ensayo, a los 35 días de recibir pastizal de primavera.

**Tabla 5.** Datos pluviométricos del establecimiento (Departamento San Cosme, Provincia de Corrientes, año 2009). Fuente: datos propios del establecimiento.

ene	feb	mar	abr	may	jun	jul	ago	sep	oct	nov	dic
29	67	19	35	0	0	0	59	0	89	359	70

La disminución de los valores promedios de los ácidos grasos CLA y Omega 6 y 3 registrados en el segundo ensayo en comparación con los obtenidos en el primero, en el mismo establecimiento, con los mismos animales e igual procedimiento, se debió a que el segundo ensayo coincidió con una época de extrema sequía (Tabla 5) principalmente en los cuatro meses previos y durante el mes de toma de muestras. Ello provocó la falta de pastizales verdes, lo que demuestra su influencia en la producción de dichos ácidos. Se destaca que el ácido graso que se redujo en mayor proporción fue el CLA, en un 75,66%, seguido por el Omega 3 con un 65,17% y el Omega 6 con un 47,67%.

El mayor valor promedio de CLA obtenido en la presente experiencia con pastizal de primavera (15,74 mg/g de grasa) resultó superior a los obtenidos en Argentina, que fueron de 4,83 y de 4,5 mg/g de grasa con búfalas alimentadas exclusivamente con pastizales naturales en la provincia de Tucumán<sup>17, 18</sup>. En Brasil se obtuvieron valores de 11,0 mg/g de grasa en búfalas alimentadas exclusivamente con pasto brachiaria (*Brachiaria decumbens*)<sup>4</sup>. Los valores de CLA de nuestra experiencia resultaron inferiores a los alcanzados en India, donde se obtuvieron niveles promedio de 17,0 mg/g de grasa en búfalas alimentadas con trébol (*Trifolium alexandrinum*) exclusivamente<sup>16</sup>.

El mayor valor promedio de Omega 6 obtenido en el presente trabajo (7,30 mg/g de grasa) resultó superior al citado en Brasil (7,2 mg/g de grasa) con pasto brachiaria<sup>4</sup> y muy inferior al registrado en India (16,4 mg/g de grasa) con una dieta a base de trébol<sup>16</sup>. El mayor valor promedio de Omega 3 obtenido en nuestra experiencia (4,45 mg/g de grasa) fue muy inferior al obtenido en India (14,2 mg/g de grasa) con la dieta a base de trébol<sup>16</sup>.

Debido a los resultados obtenidos en nuestra experiencia y comparados con los reportados por otros autores se puede inferir que los mejores valores se obtienen con pasturas implantadas, no obstante esta experiencia logró resultados aceptables con pastizales naturales. En cuanto a la relación más estrecha de omega 6/3 obtenida en nuestro trabajo (1,64 : 1), fue inferior a la registrada en India con la dieta basada en trébol, que fue de 1 : 1<sup>16</sup>.

Se concluye que en nuestra región, en la cual los animales son alimentados principalmente sobre pastizales naturales, los parámetros estudiados varían signi-

ficativamente por cambios climáticos como las sequías otoñales, que provocan descenso de los valores de ácidos grasos CLA y Omega 6 y 3 en la leche. Los datos de esta época contrastan estadísticamente con los mayores valores registrados con pastizal de primavera.

Incrementar la concentración de estos ácidos grasos mediante una suplementación estratégica de fácil implementación, bajo costo y que no altere las propiedades organolépticas de la leche, constituye el desafío de las investigaciones en el área de nutrición de búfalos y tecnología de los alimentos.

## REFERENCIAS

1. **Belury MA.** 2002. Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. *Ann Rev Nutr* 22: 505–531.
2. **Bergamo P, Fedele E, Iannibelli, Marzillo G.** 2003. Fat-soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. *Food Chem* 82: 625–631.
3. **Bligh EG, Dyer WJ.** 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911–917.
4. **Caldeira LA, Ferrao SP, Fernandes SA, Santos TD, Magnavita AP.** 2010. Lipid profile of Murrah buffalo milk. Proceedings 9<sup>th</sup> World Buffalo Congress, Buenos Aires, Argentina. *Rev Vet* 21–Supl. 1: 567–568.
5. **Fedele E, Iannibelli L, Marzillo G.** 2001. Conjugated linoleic acid content in milk and mozzarella cheese from buffalo feed with organic and traditional diet. Proceedings VI World Buffalo Congress, Maracaibo (Venezuela), p. 404–409.
6. **Gagliostro GA.** 2004. Manejo nutricional para la producción de leches de vaca y de cabra con alto impacto sobre la salud humana. *Publicación INTA– Balcarce y Facultad de Ciencias Agrarias UNMDP* (Mar del Plata, Argentina), 84 p.
7. **InfoStat.** 2010. *Publicación Grupo Infostat*, Facultad Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
8. **ISO 15304.** 2002. Animal and vegetable fats and oils. Determination of the content of trans fatty acid isomers of vegetable fats and oils. Gas chromatographic method. On line: [www.iso.org/iso/iso\\_catalogue/catalogue\\_tc/catalogue\\_detail.htm](http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_detail.htm).
9. **Medeiros SR.** 2002. Ácido linoléico conjugado: teores nos alimentos e seu uso no aumento da produção de leite com maior teor de proteína e perfil de ácidos graxos modificados. *Tese* (Doutorado em Agronomia, Escola Superior de Agricultura Luiza de Queiroz), Piracicaba (Brasil), 98 p.
10. **Oliveira RL, Ladeira MM, Barbosa MA, Matsushita M, Santos GT, Bagaldo AR, Oliveira RL.** 2009. Composição química e perfil de ácidos graxos do leite e muçarela de búfalas alimentadas com diferentes fontes de lipídeos. *Arq Bras Med Vet Zootec* 61: 736–744.
11. **Patiño EM, Judis MA, Guanziroli C, Pochon DO, Cedrés JF, Doval MM, Romero A, Faisal EL, Crudeli G, Rebak G.** 2008. Determinación de ácidos grasos en leche bubalina (*Bubalus bubalis*) producida en Corrientes, Argentina. *Rev Vet* 19: 28–32.
12. **Patiño EM, Judis MA, Guanziroli C, Sanchez Negrette M, Pochon DO, Cedres JF, Doval MM, Romero A, Crudeli G, Rebak G.** 2010. Conjugated linoleic acid and omega 6 and 3 in buffalo milk in Corrientes, Argentina. *Red Vet* 21: 244–248.
13. **Secchiari P, Campanile G, Mele M, Zicarelli F, Del Viva M, Amante L.** 2005. Fatty acid composition and CLA content of milk fat from Italian buffalo. *EAAP Scientific Series* 112: 339–343.
14. **Talpur FN, Memon NN, Bhanger MI.** 2007. Comparison of fatty acid and cholesterol content of Pakistani water buffalo breeds. *Pak J Anal Environ Chem* 8: 15–20.
15. **Talpur FN, Bhanger MI, Khooharo AA, Zuhra G.** 2008. Seasonal variation in fatty acid composition of milk ruminants reared under the traditional feedings system of Sindh, Pakistan. *Livestock Sci* 118: 166–172.
16. **Tyagi AK, Kewalramani N, Dhiman TR, Kaur H, Singhal KK, Kanwajia SK.** 2007. Enhancement of the conjugated linoleic acid content of buffalo milk and milk products through green fodder feeding. *Anim Feed Sci Technol* 133: 351–358.
17. **Van Nieuwenhove C, Gonzalez S, Perez A, Ruiz AP.** 2004. Conjugated linoleic acid in buffalo (*Bubalus bubalis*) milk from Argentina. *Milchwissenschaft* 59: 9–10.
18. **Van Nieuwenhove C, Gauffin P, Perez A, Gonzalez S.** 2007. Chemical composition and fatty acid content of buffalo cheese from northwest Argentina: effect on lipid composition of mice tissues. *J Food Lipids* 14: 223–243.