

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

Eryck R. Silva Hernández, Ma. Miriam Suarez Jácome, Rosa Guadalupe Herrera Lee, Takuo Nakano, Lech Ozimek y Iñigo Verdalet Guzmán

Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México. Alberta Dairy Association Research Unit, c/o Department of Agricultural, Nutrition and Food Science, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada

RESUMEN. Con la finalidad de determinar el perfil de ácidos grasos y la composición química de productos lácteos enriquecidos con ácido linoleico conjugado (CLA) de manera natural, se elaboraron crema, mantequilla y grasa butírica con leche obtenida de vacas que recibieron una dieta control o suplementación con semilla de girasol en un 11.2%. El análisis químico incluyó el perfil de ácidos grasos, materia grasa, proteína y cenizas; en la leche se determinó además el contenido de lactosa. Se calcularon los índices de aterogenicidad (IA) y trombogenicidad (IT) en la leche y productos elaborados. Los resultados indicaron que los contenidos de grasa, proteína, lactosa y ceniza no fueron afectados por la incorporación de semilla de girasol en la dieta de los animales. El contenido promedio de CLA y ácido trans vaccénico (TVA) expresados en g/100 g de lípidos totales fue, para los productos control, 0.54 y 1.6; mientras que para los productos ricos en CLA fueron 2 y 6.4, lo cual representa un incremento de cuatro veces. Además, en los productos ricos en CLA los IA e IT disminuyeron considerablemente (38.4 y 25% menos, respectivamente). Se observó que los perfiles de ácidos grasos no se modificaron durante el procesamiento, indicando que el CLA es un componente estable en los productos lácteos analizados. El uso de semilla de girasol en la dieta de las vacas, incrementa el contenido de CLA y TVA en los productos lácteos y disminuye el riesgo de enfermedades cardiovasculares en humanos sin afectar la proporción de los componentes mayoritarios.

Palabras clave: Acido linoleico conjugado, ácido trans vaccénico, índice de aterogenicidad, índice de trombogenicidad, crema, mantequilla, grasa butírica.

INTRODUCCION

La leche es un alimento excelente e indiscutible desde el punto de vista nutricional, sin embargo, en las últimas décadas ha sido sustituido en los adultos por productos con menor cantidad de grasas saturadas y colesterol. El consumidor ha aceptado la teoría de que las grasas animales conducen irremediamente a las enfermedades cardiovasculares y a la tumorigénesis (1).

SUMMARY. High conjugated linoleic acid (CLA) content in milk and dairy products using a dietary supplementation of sunflower seed in cows. Thrombogenic/atherogenic risk issues. This study was undertaken to determine the effect of dietary supplementation of sunflower seed in cows on the chemical composition of milk and dairy products. Cream, butter and butter oil were prepared from milk produced by cows fed a control diet (control products) or diet supplemented with 11.2% sunflower seed (CLA-rich products). Milk samples collected were determined for lactose. A sample of CLA-rich or control product was determined for fatty acid profile as well as fat, protein and ash contents. The index of atherogenicity (IA) and the index of thrombogenicity (IT) were also calculated. Results revealed that there was no effect of the inclusion of sunflower seed in the diet on the lactose content in milk and total fat, protein and ash contents in the dairy products. Average contents of conjugated linoleic acid (CLA) and transvaccenic acid (TVA), expressed as g/100g total fatty acid were 0.54 and 1.6, respectively in the control products, and 2 and 6.4, respectively in the CLA-rich products. The content of either CLA or TVA was approximately four fold higher in the latter products. Moreover, CLA-rich products showed considerably low IA and IT, which were, respectively, 38.4 and 25.0% less than those from control products. Fatty acid profiles were unaffected during processing, which demonstrates that CLA is a stable component in the dairy products analyzed. It was concluded that dietary supplementation of sunflower seed in cows increases the CLA and TVA contents in milk, which may contribute to the reduction of the risk of cardiovascular diseases in humans.

Key words: Conjugated linoleic acid, transvaccenic acid, index of atherogenicity, index of thrombogenicity, cream, butter, butter oil.

Los gobiernos y las instituciones de atención a la salud de varios países recomiendan que las personas reduzcan la ingestión de grasa en la dieta y sustituyan las grasas saturadas con aceites poliinsaturados (2). Debido a la gran demanda de alimentos bajos en grasa, la industria de los alimentos está buscando sustitutos de grasas en la dieta (1). Sin embargo, algunas grasas de la dieta son esenciales para mantener un crecimiento y desarrollo adecuados, ya que proveen ácidos grasos esenciales, vitaminas liposolubles y proporcionan altas cantidades de energía (2).

El ácido linoleico conjugado (CLA) es un término colectivo usado para describir uno o más isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico. El isómero *cis*-9, *trans*-11 representa de 80 a 90 % del total de CLA en la grasa de la leche y es el que se ha relacionado con la actividad anticarcinogénica (3). Este ácido graso bioactivo está presente en mayor proporción en productos de animales rumiantes tales como leche y carne. Estudios con animales han demostrado que el CLA tiene la propiedad de inhibir células cancerosas, disminuir las concentraciones de colesterol LDL y glucosa en sangre, entre otras funciones (4).

Aunque es aceptado que el CLA es producido como primer intermediario durante la biohidrogenación del ácido linoleico (C18:2) suministrado en la dieta de los rumiantes, existen evidencias de que gran parte del isómero *cis*-9, *trans*-11 que se encuentra en la leche, es sintetizado a partir del ácido trans vaccénico (TVA) (5), por lo que el TVA debe ser considerado por su efecto benéfico a la salud y no como un riesgo por ser un ácido graso *trans*.

Típicamente las concentraciones de CLA en la grasa de la leche están entre 3 y 6 mg/g, aunque la concentración varía por efecto de la estación, raza, edad y la variación individual de los animales; sin embargo, la dieta es un factor que tiene mayor influencia, encontrándose valores de hasta 5.63 g de CLA/100 g de grasa en la leche en animales alimentados con dietas altas en grasa (6). El interés por manipular la dieta de las vacas con el fin de incrementar la concentración de este ácido graso en la leche ha cobrado importancia en los últimos años, por lo que se han realizado numerosas investigaciones suplementando a los animales con semillas ricas en ácido linoleico y α -linolénico (7), semillas protegidas con formaldehído (8), aceite de pescado (9, 10) e infusiones directas de CLA en el abomaso (11).

Los productos ricos en grasa, como la crema y la mantequilla, representan potencialmente una fuente significativa de CLA. Por otro lado, la industria está interesada en obtener concentrados de CLA para poder ser empleados en otros productos, lo cual podría ser obtenido a partir de la grasa butírica, sin embargo, los procesos térmicos y mecánicos que se utilizan para obtenerla podrían causar una modificación de la estructura del CLA, por lo que es importante realizar estudios que permitan conocer cómo se comporta este ácido graso durante el procesamiento, ya que la información disponible al respecto es muy escasa. Por tal motivo el objetivo del presente estudio fue determinar el perfil de ácidos grasos y la composición química de leche, crema, mantequilla y grasa butírica ricas en CLA.

MATERIAL Y METODOS

Preparación de las muestras

La leche fue obtenida en la Estación de Investigación de Edmonton de la Universidad de Alberta, Canadá. Las vacas recibieron una dieta control (Productos control) o suplementación con semilla de girasol en un 11.2% del total del alimento en materia seca (Productos ricos en CLA). Se elaboraron crema, mantequilla y grasa butírica tanto con leche rica en CLA como leche control de acuerdo a las metodologías sugeridas por el Dairy Processing Handbook (12). La separación de la crema se realizó en una centrífuga Alfa Laval AB (LAPX202BGT-24) a 3000 x g utilizando leche previamente calentada a 70°C. Posteriormente la crema se pasteurizó a 90°C durante 10 s y se almacenó a 8°C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, se calentó la crema a 18°C y se procedió a elaborar la mantequilla utilizando una mantequillera Gilson Tylor, 6F. Para obtener la grasa butírica, la mantequilla se fundió mediante calentamiento a 60°C manteniéndose a una temperatura aproximada de 60-70°C durante 60 minutos para asegurar que todo el material se encontrara en estado líquido, posteriormente el aceite se concentró en la misma centrífuga en la que se obtuvo la crema. Se tomaron muestras de cada uno de los productos obtenidos durante el proceso y se almacenaron a 4°C para su posterior análisis, con excepción de las muestras utilizadas para la determinación del perfil de ácidos grasos, las cuales fueron almacenadas a -30°C antes de su preparación para su análisis en cromatografía de gases.

Perfil de ácidos grasos

La extracción de la materia grasa de la leche se llevó a cabo utilizando la metodología descrita por Folch *et al.* (13) con una solución de cloroformo y metanol en una relación 2:1 (24 mL/2 mL de muestra) seguido por 8 mL de una solución de NaCl al 0.88%. Los ácidos grasos obtenidos fueron transesterificados con metóxido de sodio de acuerdo a la metodología propuesta por Christie (14) y Chouinard *et al.* (15). Los ésteres metilados de ácidos grasos en hexano (conocidos como FAME, por sus siglas en inglés, Fatty Acid Methyl Esters) fueron inyectados en un cromatógrafo de gases Varian 3600 equipado con un detector de ionización de flama. Los FAME fueron separados en una columna capilar Supelco SP2560 (100 m x 0.25 mm x 0.2 μ m) usando helio como gas acarreador con un flujo de 1 mL por minuto. La temperatura inicial de la columna fue de 40°C y se mantuvo durante 4 minutos, posteriormente se incrementó hasta 175°C a 13°C/min manteniéndose por 25 minutos, transcurrido este tiempo, se incrementó la temperatura hasta 215°C a 4°C/min permaneciendo así durante 23 minutos. Finalmente la temperatura fue incrementada a 230°C a 5°C/min y se mantuvo por 17.5 minutos. La temperatura inicial del inyector

fue de 50°C manteniéndose durante 0.2 minutos para después incrementarse a una velocidad de 150°C/min hasta una temperatura máxima de 230°C que permaneció durante 96 minutos.

Los picos de cada ácido graso fueron identificados por sus tiempos de retención con referencia a los estándares de metil ésteres puros (NuChekPrep 463). Los isómeros de CLA (*cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12) fueron identificados por su tiempo de retención utilizando sus respectivos estándares. La identificación y análisis de los picos se realizó usando el software Shimadzu. El porcentaje de cada ácido graso fue calculado dividiendo el área bajo la curva de cada pico entre la suma total de las integrales de los ácidos grasos identificados.

Determinación de materia grasa, proteína, lactosa y cenizas

La materia grasa en crema se determinó mediante la técnica de Babcock (16). La determinación de materia grasa en mantequilla y grasa butírica se realizó mediante un equipo de extracción continua de grasa Goldfish (Labconco Co., USA), utilizando éter de petróleo como solvente. La técnica de Lowry (18) fue empleada para determinar las concentraciones de proteína en crema, mantequilla y grasa butírica, midiéndose la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 740 nm a través de un espectrofotómetro Hewlett Packard 8452A Pro-Spec 486. La lactosa, proteína y grasa en la leche fueron determinadas mediante espectroscopía infrarroja utilizando un equipo MilkoScan Analyzer (Foss Electric, Dinamarca). El contenido de sólidos totales y cenizas en la leche y en los productos lácteos elaborados fue obtenido por las técnicas de desecación en estufa y calcinación en mufla, respectivamente, propuestas por la AOAC (16).

Índice de aterogenicidad y trombogenicidad

Los índices de aterogenicidad (IA) y trombogenicidad (IT) de los productos ricos en CLA y de sus correspondientes controles fueron obtenidos de acuerdo a las fórmulas propuestas por Ulbricht y Southgate (17):

$$IA = \frac{aS' + bS'' + cS'''}{dP + eM + fM'}$$

Donde S' es la concentración en g/100 g de C12:0; S'' la de C14:0; S''' la de C16:0; P es la suma de las concentraciones de los ácidos grasos poliinsaturados; M es la de C18:1 y M' es la suma de las concentraciones de otros monoinsaturados. Asimismo, a-f son constantes empíricas, donde a, c, d, e, f tienen un valor de 1, mientras que b vale 4. Estas constantes están relacionadas con el potencial aterogénico o antiaterogénico de cada ácido graso o grupo de ácidos grasos. En el caso del ácido mirístico (S''), por ejemplo, el coeficiente empleado "b" tiene un valor de 4 debido a que su potencial aterogénico es alrededor de cuatro veces mayor que el del ácido palmítico (S''').

$$IT = \frac{mS^{iv}}{nM + oM' + p(\omega 6) + q(\omega 3) + \omega 3 / \omega 6}$$

Donde S^{iv} es la suma de las concentraciones en g/100 g de C14:0, C16:0 y C18:0; ω6 son las concentraciones de los ácidos grasos poliinsaturados ω6; ω3 son las de los ácidos grasos poliinsaturados ω3; M es la concentración de C18:1 y M' es la suma de las concentraciones de otros monoinsaturados. De la misma manera, m-q son constantes empíricas donde m tiene un valor de 1; n, o y p tienen un valor de 0.5 y q un valor de 3. Estas constantes, al igual que en la fórmula de aterogenicidad, están relacionados con el potencial aterogénico o antiaterogenicidad de cada ácido graso o grupo de ácidos grasos.

Análisis estadístico

Con los resultados de los análisis químicos se construyeron bases de datos en el paquete estadístico Statistica 2000 (19) calculándose promedios y desviaciones estándar, además de realizarse análisis de varianza (ANOVA). Con los datos de los perfiles de los ácidos grasos, se realizaron gráficas de estrellas.

RESULTADOS

La Tabla 1 presenta la composición de las leches empleadas así como de los productos elaborados en el presente estudio. Ninguno de los componentes presentó diferencias significativas (p>0.05) al compararse la leche rica en CLA con su correspondiente control.

TABLA 1

Composición de la leche, crema, mantequilla y grasa butírica ricos en ácido linoleico conjugado (CLA) y de su control correspondiente (g/100 g base seca). La desviación estándar se muestra entre paréntesis

Componente	Producto rico en CLA	Producto control
Leche		
Grasa	30.0 (2.7)	31.8 (4.4)
Proteína	30.5 (0.5)	29.1 (1.0)
Lactosa	39.6 (0.5)	38.0 (0.5)
Cenizas	6.5 (0.6)	5.7 (0.7)
Crema		
Grasa	85.4 (3.9)	86.7 (3.8)
Proteína	6.2 (0.6)	5.0 (0.6)
Cenizas	1.6 (0.3)	1.3 (0.4)
Mantequilla		
Grasa	90.6 (3.2)	93.7 (0.9)
Proteína	1.6 (0.3)	1.1 (0.04)
Cenizas	0.3 (0.04)	0.2 (0.03)
Grasa butírica		
Grasa	97.1 (3.5)	98.9 (1.2)
Proteína	0.25 (0.01)	0.1 (0.01)
Cenizas	ND	ND

ND: No detectable

En lo referente a la composición de los productos elaborados, el contenido de materia grasa en base seca es, por mucho, el más abundante en los seis productos analizados (tres ricos en CLA y tres control). El análisis estadístico no reveló diferencias significativas ($p>0.05$) en este componente entre los productos elaborados con CLA y su correspondiente control. Con excepción de la crema, en donde se detectó una cantidad importante de proteína, el resto de los componentes en todos los productos fue básicamente despreciable (Tabla 1).

Un resumen del perfil de los ácidos grasos de los productos analizados así como los índices de aterogenicidad y

trombogenicidad se presentan en la Tabla 2. En donde se observa no sólo una reducción importante de la cantidad de ácidos grasos saturados en los productos ricos en CLA respecto a los control, sino una disminución de los índices tanto de aterogenicidad como de trombogenicidad. Sin embargo, los productos elaborados con leche rica en CLA mostraron un índice de aterogenicidad de 1.3, lo cual representa una reducción de 38.4%. En lo que respecta al índice trombogénico, los productos ricos en CLA también mostraron valores apreciablemente menores que los controles.

TABLA 2
Resumen del perfil de ácidos grasos de leche, crema, mantequilla y grasa butírica ricos en ácido linoleico conjugado (CLA) y de su control correspondiente (g/100 g de lípidos)

	Leche		Crema		Mantequilla		Grasa butírica	
	CLA	C ¹	CLA	C	CLA	C	CLA	C
Saturados ²	54.18	68.25	54.39	65.51	54.58	65.71	54.73	60.93
Saturados (C4-12)	7.86	12.88	7.92	13.47	8.10	13.63	7.98	11.99
CLA ³	2.05	0.52	2.00	0.54	2.08	0.52	2.12	0.59
TVA ⁴	6.29	1.44	6.28	1.54	6.50	1.59	6.67	1.87
Monoinsaturados	38.60	30.97	38.60	29.87	38.50	29.95	38.29	33.60
Poliinsaturados	4.16	3.38	4.11	3.42	4.20	3.37	4.15	3.63
IA ⁵	1.29	2.12	1.30	2.25	1.31	2.27	1.33	1.80
IT ⁶	2.12	2.86	2.12	2.98	2.12	2.99	2.16	2.51

¹ Control

² Incluye todos los ácidos grasos saturados

³ Acido Linoleico Conjugado (C 18:2 *cis* 9, *trans* 11)

⁴ Acido *Trans* Vaccénico (C 18:1 *trans* 11)

⁵ Índice de aterogenicidad

⁶ Índice de trombogenicidad

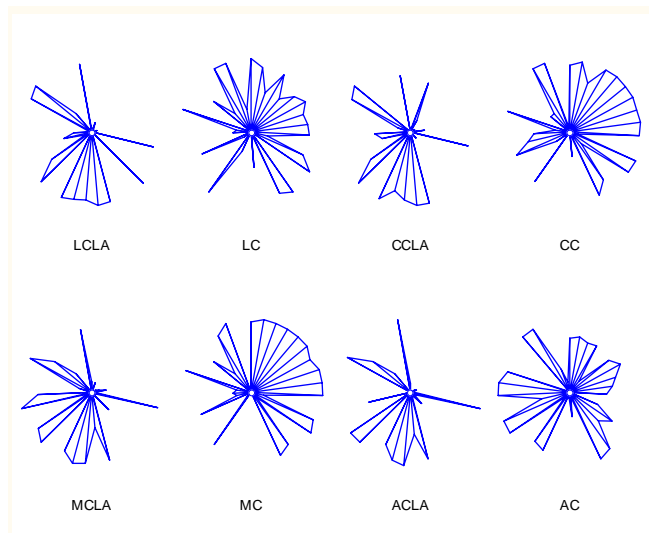
Lo anterior es resultado de la disminución del contenido de ácidos grasos saturados y del aumento de ácidos grasos insaturados en los productos ricos en CLA. En este sentido, los ácidos grasos saturados disminuyeron 16% con respecto a los productos control, sin embargo la reducción más importante corresponde a los ácidos grasos saturados de cadena corta (C4-C12), que fue de 39%, lo cual indica una inhibición considerable de la síntesis de *novo* de ácidos grasos. Los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados representaron el 43% del total de ácidos grasos analizados en los productos ricos en CLA, mientras que en los productos control correspondieron al 35%.

Los contenidos de ácido *trans* vaccénico (TVA) y ácido linoleico conjugado (CLA) en los productos ricos en CLA fueron 6.29 y 2.06 g/100 g de grasa, respectivamente, correspondiendo a un incremento de cuatro veces con respecto a los productos control. El isómero *cis*-9, *trans*-11 representó el 100% del CLA determinado en este estudio.

En la Figura 1, se muestra en forma comparativa el perfil de ácidos grasos de los productos analizados. En este gráfico de estrellas se aprecia cómo los productos ricos en CLA tienen perfiles de ácidos grasos similares entre sí, pero diferentes a los productos control, los cuales también muestran similitud entre ellos mismos. Es importante destacar que la semejanza en los perfiles de ácidos grasos entre los productos ricos en CLA, demuestra que los tratamientos tanto térmicos como mecánicos aplicados para su fabricación parecen no modificar tales perfiles, lo cual es muy interesante dado el incremento de ácidos grasos insaturados. Asimismo, esto confirma que el CLA es un compuesto estable durante el procesamiento, ya que su concentración se aprecia evidentemente constante durante la transformación de la leche hasta la grasa butírica, pasando por la crema y la mantequilla (Tabla 2).

FIGURA 1

Perfil de ácidos grasos de los productos elaborados. LCLA: leche rica en CLA; LC: leche control; CCLA: crema rica en CLA; CC: crema control; MCLA: mantequilla rica en CLA; MC: mantequilla control; ACLA: grasa butírica rica en CLA; AC: grasa butírica control



DISCUSION

A diferencia de lo encontrado en este estudio, algunos autores han demostrado que la alimentación de las vacas tiene un efecto importante sobre la composición de la leche, especialmente en su contenido de grasa (20). La suplementación con aceite de pescado (2-3.7% en materia seca) o infusiones directas de CLA al abomaso (50-150 g de CLA por día) han causado reducción en los contenidos de grasa, proteína (11), lactosa en la leche y sólidos totales (9).

En contraste a los suplementos que incluyen aceites libres, se ha encontrado que cuando las vacas son alimentadas con semillas oleaginosas (semilla de girasol, linaza, soya), los componentes de la leche no disminuyen, debido probablemente a la liberación lenta de los ácidos grasos durante la digestión ruminal (7). Esto coincide con lo encontrado en esta investigación, en donde se utilizó semilla de girasol (11.2% en materia seca) como fuente rica en ácido linoleico en la dieta de las vacas.

Aunque los índices tanto de aterogenicidad como de trombogenicidad se ven relativamente disminuidos en este estudio, Ulbricht y Southgate (17), en una investigación sobre siete factores dietéticos relacionados con enfermedades cardiovasculares, indicaron que los productos lácteos como la leche, mantequilla y queso tienen un alto índice de aterogenicidad (2.03), valor muy similar al determinado en este estudio para los productos control (2.11). Sin embargo, es importante recalcar que los productos elaborados con leche

rica en CLA en este estudio mostraron índices de aterogenicidad y trombogénico apreciablemente menores que los control.

Baer *et al.* (9) y Ramaswamy *et al.* (10) encontraron contenidos de ácidos grasos insaturados muy similares a los obtenidos en este estudio, mientras que el contenido de ácidos grasos insaturados señalado por Lynch *et al.* (21) en los productos ricos en CLA corresponde a un 50 % del total de ácidos grasos.

Los contenidos de ácido *trans* vaccénico (TVA) y ácido linoleico conjugado (CLA) encontrados en este estudio son muy similares a los obtenidos por Ramaswamy *et al.* (10), 4.08 y 2.3 g y Baer *et al.* (9), 6.28 y 2.5 g de TVA y CLA/100 g de grasa, respectivamente, pero inferiores a los publicados por Lynch *et al.* (21), 12.06 y 4.74 g y Jones *et al.* (22), 14.3 y 4.6 g de CLA/100 g de grasa, respectivamente. Estos contenidos de CLA y TVA representan los valores más altos en los productos donde se han realizado evaluaciones fisicoquímicas, utilizándose aceite de pescado como suplemento en la dieta de los animales en un 2% del total de la materia seca. El isómero *cis*-9, *trans*-11 representó el 100% del CLA determinado en este estudio, el cual es asociado con las propiedades anticancerígenas de este ácido graso bioactivo (3). La transferencia de los otros isómeros del CLA a la leche se ha encontrado cuando se utilizan suplementos con CLA sintético (11).

Existe evidencia de que algunos de los ácidos grasos de cadena larga se encuentran enlazados con algunas proteínas del suero, especialmente con la β -lactoglobulina (23), lo cual podría representar una protección de los ácidos grasos contra la isomerización y oxidación durante el procesamiento (24). Por otra parte, Zegarska (25) menciona que durante algunos procesos tecnológicos los glóbulos se adsorben con algunas proteínas debido a la ruptura de su membrana. En el caso específico de la mantequilla y la grasa butírica, la cantidad de proteína es apreciablemente pequeña y la protección contra la isomerización y oxidación que ésta podría proporcionar sería mínima.

CONCLUSIONES

El cambio de dieta en las vacas trae usualmente un cambio en la proporción del contenido de grasa, proteína, lactosa y/o cenizas en la leche, sin embargo, esta proporción no fue afectada por la incorporación de semilla de girasol en la dieta de las vacas empleadas en este estudio al compararla con la composición de la leche control. El uso de estas semillas de girasol como fuente de ácido linoleico permitió la obtención de leche rica en ácido linoleico conjugado (CLA), que a su vez fue transformada en crema, mantequilla y grasa butírica ricas en este ácido graso. Los contenidos de CLA y el ácido *trans* vaccénico aumentaron cuatro veces aproximadamente

en los productos ricos en CLA con respecto a los productos control, lo cual podría cubrir la dosis mínima recomendada para que el CLA produzca un efecto benéfico. Del mismo modo, tanto la leche como los productos lácteos elaborados ricos en CLA presentaron una disminución considerable tanto de los ácidos grasos saturados, como de los índices de aterogenicidad y trombogenicidad, así como un aumento en los ácidos grasos insaturados. Se demostró también que los tratamientos térmicos y mecánicos utilizados en la elaboración de los productos lácteos en este estudio no afectaron los perfiles de ácidos grasos.

REFERENCIAS

- Deckere EAM and Verschuren PM. Functional fats and spreads. In: *Functional Foods. Concept to Product*. Editores G.R Gibson and CM Williams (eds.). Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England. 2000 pp. 233-251.
- Gurr MI. Health aspects of dairy and confectionery fats. In: *Production and application of confectionery fats*. Society of chemical industry (Great Britain). Edited by oils and fat groups. Ed. P.J. Barnes & Associates. Bridgwater, England. 1997 pp. 1-18.
- Pariza MW, Park Y and Cook ME. Minireview. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation. *P.S.E.B.M.* 2000; 223: 8-13.
- O'Quinn PR, Nelssen JL, Goodband RD and Tokach MD. Conjugated linoleic acid. *Anim Health Res Rev* 2000; 1(1): 35-46.
- Bauman DE, Baumgard LH, Corl BA and Griinari JM. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proc Am Soc Animal Sci* 1999. Disponible en: <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0937.pdf>.
- Bell JA and Kennelly JJ. Conjugated linoleic acid enriched milk: a designer milk with potential. *Adv Dairy Technol* 2001; 13: 213-227.
- Collomb M, Sollberger H, Butikofer U, Sieber R, Stoll W and Schaeren W. Impact of a basal diet of hay and fodder beet supplemented with rapeseed, linseed and sunflowerseed on the fatty acid composition of milk fat. *Int Dairy J* 2004; 14 (6): 549-559.
- Tymchuck SM, Khorasani GR and Kennelly JJ. Effect of feeding formaldehyde-and heat-treated oil seed on milk yield and milk composition. *Can J Anim Sci* 1998; 78: 693-700.
- Baer RJ, Ryall J, Schingoethe DJ, Kasperson KM, Donovan DC, Hippen AR and Franklin ST. Composition and properties of milk and butter from cows fed fish oil. *J Dairy Sci* 2001; 84: 345-353.
- Ramaswamy N, Baer RJ, Schingoethe DJ, Hippen AR, Kasperson KM and Whitlock LA. Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. *J Dairy Sci* 2001; 84: 2144-2151.
- Chouinard PY, Corneau L, Barbano DM, Metzger LE and Bauman DE. Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. *J Nutr* 1999; 129: 1579-1584.
- Dairy Processing Handbook*. Ed. Tetra Pak Processing Systems AB. 1995 436 p.
- Folch J, Lees M and Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226: 477-480.
- Christie WW. A simple procedure for transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. *J Lipid Res* 1982; 23: 1073-1075.
- Chouinard PY, Corneau L, Saebo A and Bauman DE. Milk yield and composition during abomasal infusion of conjugated linoleic acids in dairy cows. *J Dairy Sci* 1999; 82: 2737-2745.
- AOAC. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 16^a ed. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, Maryland. 1998.
- Ulbricht TLV and Southgate DAT. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet* 1991; 338: 985-992.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. *J Biol Chem* 1951; 195:265-275.
- StatSoft, Inc. *STATISTICA for Windows* [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2300 East 14th Street, Tulsa, OK 74104, phone: (918) 749-1119, fax: (918) 749-2217, email: info@statsoft.com, WEB: <http://www.statsoft.com>. 2000.
- Ashes JR, Gulati SK and Scott TW. Potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. *J Dairy Sci* 1997; 80: 2204-2212.
- Lynch JM, Lock AL, Dwyer DA, Noorbakhsh R, Barbano DM and Bauman DE. Flavor and stability of pasteurized milk with elevated levels of conjugated linoleic acid and vaccenic acid. *J Dairy Sci* 2005; 88: 489-498.
- Jones EL, Shingfield KJ, Kohen C, Jones AK, Lupoli B, Grandison AS, Beever DE, Williams CM, Calder PC and Yaqoob P. Chemical, physical, and sensory properties of dairy products enriched with conjugated linoleic acid. *J Dairy Sci* 2005; 88: 2923-2937.
- Pérez MD and Calvo M. Dairy foods. Interaction of β -Lactoglobulin with retinol and fatty acids and its role as a possible biological function for this protein: a review. *J Dairy Sci* 1995; 78: 978-988.
- Nudda A, McGuire MA, Battacone G and Pulina G. Seasonal variation in conjugated linoleic acid and vaccenic acid in milk fat of sheep and its transfer to cheese and ricotta. *J Dairy Sci* 2005; 88: 1311-1319.
- Zegarska ZA. Milk lipids. In: *Chemical & Functional Properties of Food Lipids*. Edited by Z.E. Sikorski, and A. Kolakowska Ed. CRC Press LLC. United States of America. 2003 pp 265-277.

Recibido:17-11-2006

Aceptado:11-07-2007