



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

---

---

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD GANADERÍA**

**ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO PROTEGIDO EN LA DIETA DE  
BORREGOS PELIBUEY: EFECTO EN CARACTERÍSTICAS  
PRODUCTIVAS**

**BERNARDINO ESPINOZA VELASCO**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO**

**2014**

---

---

El presente proyecto de investigación titulado **ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO PROTEGIDO EN LA DIETA DE BORREGOS PELIBUEY: EFECTO EN CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS**, realizado por el alumno Bernardino Espinoza Velasco. Bajo la dirección del Consejo Particular indicado, fue aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

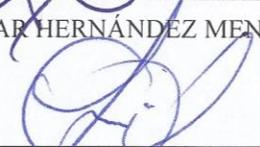
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

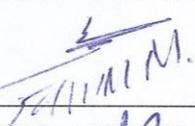
CONSEJERO

  
\_\_\_\_\_  
DR. OMAR HERNÁNDEZ MENDO

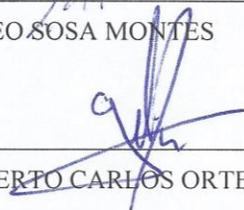
ASESOR

  
\_\_\_\_\_  
DR. DAVID HERNÁNDEZ SÁNCHEZ

ASESOR

  
\_\_\_\_\_  
DR. ELISEO SOSA MONTES

ASESOR

  
\_\_\_\_\_  
DR. GILBERTO CARLOS ORTEGA NAVARRO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, diciembre de 2014

**RESUMEN GENERAL**  
**ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO PROTEGIDO EN LA DIETA DE BORREGOS**  
**PELIBUEY: EFECTO EN CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS**

Bernardino Espinoza Velasco, MC.

Colegio de Postgraduados, 2014

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de incluir diferentes niveles de ácido linoleico conjugado protegido en la dieta de borregos de la raza Pelibuey en el espesor de grasa dorsal y características productivas. El trabajo se dividió en dos etapas. La primera consistió en la evaluación del comportamiento productivo y la segunda, en evaluar el efecto de adicionar diferentes niveles de ácido linoleico conjugado protegido (CLAp) en la digestibilidad y fermentación *in vitro* de la dieta. En la primera etapa, se emplearon 24 borregos de la raza Pelibuey, distribuidos homogéneamente en 4 grupos de 6 animales cada uno. Cada grupo fue asignado aleatoriamente a uno de cuatro tratamientos: T1, dieta base sin CLAp; T2, dieta base con 25g de CLAp; T3, dieta base con 50 g de CLAp; y T4, dieta base con 75 g de CLAp. Las variables evaluadas fueron consumo de materia seca, ganancia diaria de peso, conversión alimenticia, eficiencia alimenticia, espesor de grasa dorsal, rendimiento de canal caliente y fría, no hubo diferencias entre tratamientos ( $P>0.05$ ) en ninguna de las variables evaluadas cuyos promedios fueron 1,115.55 g MS/d, 241.76 g/d, 4.68, 0.22, 3.2 mm, 54.08 y 53.39 respectivamente. En la segunda etapa, se evaluaron la digestibilidad y fermentación *in vitro* de las dietas de la primera fase. El líquido ruminal fue obtenido de dos becerros de la raza Holstein de 2 años de edad y con peso vivo de 310 kg, canulados ruminalmente. Las muestras del alimento fueron incubadas a 3, 6, 9, 12, 24 y 48 h, para identificar los cambios en digestibilidad *in vitro* de materia seca, degradación de fibra detergente neutro y fibra detergente ácido, ácidos

grasos volátiles, nitrógeno amoniacal y producción de gas, cuyos resultados no tuvieron diferencias entre tratamientos ( $P>0.05$ ), donde los promedios generales fueron: 31.49 %; 38.70 %; 14.68 %; 57.12 mMolL<sup>-1</sup>; 19.54 mg N dL<sup>-1</sup>; 135.653 mL/g/muestra, respectivamente. El diseño experimental usado fue en bloques generalizados al azar. Los datos generados en ambos experimentos fueron analizados con el procedimiento GLM de SAS, usando la prueba de Tukey ( $P\leq 0.05$ ) para la comparación de medias. Los resultados obtenidos sugieren que incluir ácido linoleico conjugado protegido en la dieta de borregos no ofrece beneficios en comportamiento productivo, pero sí una ligera disminución del espesor de grasa dorsal. De manera similar, en condiciones *in vitro*, el CLAp no altera las variables de fermentación ruminal, demostrando la efectividad de la protección de los isómeros de CLA, sin llegar a modificar los demás componentes nutricionales de la dieta.

**Palabras clave:** borregos Pelibuey, CLAp, respuesta productiva, digestibilidad.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of including different levels of protected conjugated linoleic acid in the diet of sheep Pelibuey in backfat thickness and productive characteristics. The work is divided into two stages. The first consisted of the evaluation of the productive performance and second, to evaluate the effect of adding different levels of protected conjugated linoleic acid (CLAp) on digestibility and *in vitro* fermentation of the diet. Twenty four Pelibuey sheep were used, distributed into four groups of six animals each. Each group was randomly assigned to one of four treatments: T1, basal diet without CLAp; T2, basal diet with 25g CLAp; T3, basal diet with 50 g of CLAp; and T4, basal diet with 75 g of CLAp. . There were no differences among treatments ( $P > 0.05$ ), with average results for dry matter intake, daily weight gain, feed conversion, feed efficiency, backfat thickness, hot and cold carcass, of 1124.29 g MS/d, 241.76 g/d, 4.68, 0.22, 3.2 mm, 54.08 and 53.39, respectively. In the second stage, digestibility and *in vitro* fermentation of diets of the first phase were evaluated. Ruminal fluid was collected from cannulated calves two years old and weighing 310 kg. Diet samples were incubated for 3, 6, 9, 12, 24 and 48 h, to determine changes *in vitro* degradation of dry matter, degradation of neutral detergent fiber and acid detergent fiber, volatile fatty acids, ammonia nitrogen and gas production, the results did not differ between treatments ( $P > 0.05$ ), whose averages were 31.49 %; 38.70 %; 14.68 %; 57.12 mMolL<sup>-1</sup>; 19.54 mgNdL<sup>-1</sup>; 135.653 mL/g/sample, respectively. The experimental design was a randomized complete block. The data generated in both experiments were analyzed with the GLM procedure of SAS, using the Tukey test ( $P \leq 0.05$ ) for comparison of means. The results suggest that include protected conjugated linoleic acid in the diet of sheep does not offer

benefits in productive behavior, but a slight decrease in backfat thickness. Similarly, in *in vitro* conditions, CLAP not alter ruminant fermentation variables, demonstrating the effectiveness of the protection of CLA isomers without actually modifying the other nutritional components of the diet of sheep.

**Keywords:** Pelibuey sheep, CLAp, productive response, degradation.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante los estudios de Maestría.

Al Colegio de Postgraduados, por brindarme la oportunidad de estudiar la maestría.

A la línea 7 (Inocuidad, calidad de alimentos y bioseguridad) del Colegio de Postgraduados por financiar parcialmente esta investigación.

Al Dr. Omar Hernández Mendo por la confianza, apoyo, dedicación y sobre todo por su paciencia que tuvo a lo largo de mi formación.

A los miembros del consejo particular, Dr. David Hernández Sánchez, Dr. Eliseo Sosa Montes, Dr. Gilberto Carlos Ortega Navarro, por su dedicación, colaboración sugerencias para la realización de esta investigación.

A la Dra. María Magdalena Crosby Galván por la asesoría y apoyo para realizar los análisis de laboratorio.

A Don Tacho, por su disposición, asesoría y apoyo incondicional durante la fase de laboratorio.

A todos los profesores del Programa de Ganadería a quienes les debo gran parte de los conocimientos adquiridos durante mi estancia en el Colegio de Postgraduados.

A mis amigos (as) y compañeros (as) del Colegio de Postgraduados quienes en todo momento y lugar me brindaron su apoyo y amistad en esta etapa.

## CONTENIDO

INTRODUCCIÓN GENERAL .....	1
1. Planteamiento del problema .....	3
2. Objetivos.....	3
Objetivo general. ....	3
Objetivos particulares .....	4
3. Hipótesis .....	4
4. Revisión de literatura .....	4
Lípidos y salud humana.....	4
Metabolismo de lípidos en rumiantes .....	8
Metabolismo microbiano en rumen .....	8
Digestión y absorción intestinal. ....	10
Digestión y absorción de los lípidos de la dieta. ....	11
Resíntesis y transporte de lípidos. ....	12
Síntesis de lipoproteína.....	13
Biohidrogenación de ácidos grasos en rumiantes .....	14
Ingredientes en la dieta que incrementan la producción de CLA.....	18
Interacciones del CLA con otros componentes nutricionales de la dieta .....	20
Técnica de producción de gas .....	23
Particularidades de la técnica de producción de gas <i>in vitro</i> .....	26
Alternativas en la técnica de producción de gas .....	27
Degradación de la materia seca .....	28
Producción de ácidos grasos volátiles (AGV).....	29
5. Literatura citada.....	31

## CAPITULO I

ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO PROTEGIDO EN LA DIETA DE BORREGOS PELIBUEY: EFECTO EN CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS.....	47
1.1 RESUMEN .....	47
1.2 SUMMARY .....	47
1.3 INTRODUCCIÓN .....	48
1.4 MATERIALES Y MÉTODOS .....	49
1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	52
Consumo de materia seca, ganancia de peso, conversión y eficiencia alimenticia. ....	52
Grasa dorsal .....	54

Rendimiento en canal.....	59
1.6 CONCLUSIÓN .....	61
1.7 LITERATURA CITADA.....	62

## CAPITULO II

<b>EFFECTO DEL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO PROTEGIDO EN LA DIGESTIBILIDAD DE LA DIETA DE BORREGOS PELIBUEY .....</b>	<b>70</b>
2.1 RESUMEN .....	70
2.2 SUMMARY .....	71
2.3 INTRODUCCIÓN .....	72
2.4 MATERIALES Y MÉTODOS .....	73
2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	76
Digestibilidad <i>in vitro</i> de materia seca (DIVMS).....	76
Producción de gas.....	77
Producción de ácidos grasos volátiles.....	78
Nitrógeno amoniacal.....	82
Fibra detergente neutra y fibra detergente ácido .....	84
2.6 CONCLUSIÓN .....	86
2.7 LITERATURA CITADA.....	87
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES.....	93
ANEXO 1 .....	95

## LISTA DE CUADROS

### CAPITULO I

Página

<b>Cuadro 1. Ingredientes y composición química de la dieta usados en la alimentación de borregos Pelibuey .</b> .....	7451
<b>Cuadro 2. Parámetros productivos y espesor de grasa dorsal en dietas de ovinos suplementados con diferentes niveles de CLAp.</b> .....	767

### CAPITULO II

<b>Cuadro 1. Ingredientes y composición química de la dieta usados en la alimentación de borregos Pelibuey .</b> .....	74
<b>Cuadro 2. Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca (%DIVMS).</b> .....	76
<b>Cuadro 3. Producción acumulada de gas (mL) por gramo de muestra (MS) <i>in vitro</i>.</b> .....	78
<b>Cuadro 4. Producción de ácidos grasos volátiles totales y relación acético/propiónico.</b> .....	79
<b>Cuadro 5. Producción de ácidos grasos volátiles: acético, propiónico y butírico.</b> .....	80
<b>Cuadro 6. Concentración de Nitrógeno amoniacal (mg N dL<sup>-1</sup>) con diferentes niveles de inclusión de CLAp para digestibilidad <i>in vitro</i> de materia seca.</b> .....	83
<b>Cuadro 7. Desaparición de fibra detergente neutra y fibra detergente ácida a diferentes tiempos de incubación.</b> .....	85

## **INTRODUCCIÓN GENERAL**

La carne es parte esencial de la dieta humana por su aporte de proteína, grasa, vitaminas, y minerales, factor que la hecho objeto de diversos estudios durante mucho tiempo, y en las últimas décadas, el interés ha crecido debido a la asociación entre el consumo de carne (básicamente en la ingesta de grasas saturadas) y el riesgo de padecer algunas de las principales enfermedades degenerativas y crónicas, como la enfermedad isquémica del corazón, cáncer, hipertensión y obesidad (Jiménez-Colmenero, 2007; 2010). Los resultados de diversos estudios a su vez han dado origen a nuevos conocimientos en la ciencia de la carne, cuyos componentes van más allá del aspecto nutritivo e inocuo, como es en la salud del consumidor, promoviendo así la demanda de alimentos funcionales (Jiménez-Colmenero et al., 2006), donde la grasa tiene un papel importante.

La FAO (2010) señala que el consumo de grasas, especialmente las saturadas, se asocia fuertemente con las enfermedades cardiovasculares y de cierta forma con algunos tipos de cáncer. Ante este panorama, se ha puesto particular énfasis al ácido linoleico conjugado (CLA), por su potencial efecto lipolítico (Azain *et al.*, 2000; Lin *et al.*, 2001) y anticancerígeno (Rainer *et al.*, 2004), con la ventaja que su contenido en carne, y en general, el perfil de ácidos grasos, puede manipularse a través de la dieta del animal (Wood *et al.*, 2008). Por ejemplo, adicionando 6% de aceite de girasol (Boles *et al.*, 2005) o maíz (Gillis *et al.*, 2007) a la dieta de borregos, la proporción de ácidos grasos insaturados incrementa de 49.93% a 62.38%, además del incremento de los isómeros de CLA, con el inconveniente de sufrir el proceso de biohidrogenación en el rumen. Esto último ha llevado a la protección de compuestos como el CLA, a través de la encapsulación, misma que ha sido ampliamente usado en vacas lactantes básicamente (Piperova *et al.*, 2004), con resultados positivos con el

incremento de CLA en la leche, pero menor contenido de grasa total, aspecto negativo para la industria lechera, en particular cuando a procesamiento de la leche se refiere, donde el contenido de grasa es importante. De este hecho nace la hipótesis que adicionar CLA en la dieta animal, reduce la grasa en carne, aspecto positivo para la industria cárnica, porque además, sería enriquecido con CLA. Al respecto, existe poca información en la literatura, con resultados inconsistentes. Por ejemplo, al comparar la adición de CLA protegido con aceite de maíz en la dieta de toretes, no se modifican los parámetros productivos en los animales, salvo en aquellos suplementados con aceite de maíz, que tuvieron mejor marmoleo en la carne (Gillis *et al.*, 2007). Otros estudios demuestran que incluir CLA protegido con sales de calcio (1 o 2.5 %) reduce el consumo de alimento y la ganancia de peso, sin modificar la grasa de cobertura en novillos (Gassman *et al.* 2001). Sin embargo, estos resultados no son concluyentes, por lo que se requiere llevar a cabo mayor número de investigaciones para evaluar el efecto del CLA protegido en el desempeño productivo de borregos, con particular énfasis en las variables del metabolismo y digestión ruminal de la dieta basal, por efecto de incluir CLA, ya que este es un aspecto fundamental para el mejor entendimiento de la respuesta animal (Hristov *et al.*, 2005).

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar la respuesta productiva de borregos de la raza Pelibuey en etapa de crecimiento alimentados con diferentes niveles de CLA protegido en su dieta, y en condiciones *in vitro*, determinar el efecto del CLAp en la fermentación ruminal de la dieta.

## **1. Planteamiento del problema**

Uno de los principales factores para determinar la compra de carne, además, del precio y color, es el contenido de grasa, aunque en pocas ocasiones se hace referencia al tipo y calidad de dicha grasa, a pesar que constantemente se le relaciona con enfermedades cardiovasculares en el ser humano. Por tanto, es de vital importancia tomarlo en consideración, particularmente en lo referente al contenido de ácidos grasos insaturados, con énfasis a aquéllos con alguna función en especial, como es el caso del ácido linoleico conjugado (CLA), con propiedades mayormente anticancerígenas (Rainer *et al.*, 2004). En forma natural, la carne cruda de rumiantes, contiene en promedio 0.12 - 0.68% de CLA en la grasa total (Tilak *et al.*, 2005), niveles que cubren la tercera parte de la cantidad de CLA requerida para ejercer efecto y prevenir enfermedades. Por tanto, la inclusión de CLA protegido en la dieta de borregos Pelibuey, puede reducir la grasa total en la carne, y al mismo tiempo incrementar las concentraciones de CLA, logrando una concentración aproximada de 1.2 % de CLA en la grasa total, cantidad que duplicaría el consumo del CLA a través de la carne, requerido para prevenir ciertos padecimientos.

## **2. Objetivos.**

### **Objetivo general.**

Evaluar el efecto de incluir diferentes niveles de ácido linoleico conjugado protegido en la dieta de borregos de la raza Pelibuey en el espesor de grasa dorsal y características productivas.

## **Objetivos particulares**

- Evaluar la respuesta en espesor de grasa dorsal y variables productivas en borregos de la raza Pelibuey en finalización, alimentados con ácido linoleico conjugado protegido en la dieta.
- Determinar el efecto del ácido linoleico conjugado protegido en la digestibilidad de la materia seca, producción de gas, producción de ácidos grasos volátiles y nitrógeno amoniacal en condiciones *in vitro*.
- Determinar la digestibilidad de la fibra detergente neutro y fibra detergente ácido por efecto de incluir ácido linoleico conjugado protegido en la dieta de borregos de la raza Pelibuey.

## **3. Hipótesis**

La inclusión de CLA protegido en la dieta de borregos Pelibuey mejora las características productivas y reduce la deposición de grasa.

## **4. Revisión de literatura**

### **4.1. Lípidos y salud humana**

Investigaciones clínicas en humanos han demostrado que la cantidad de ácidos grasos saturados y colesterol contenidos en la dieta consumida, tienen una asociación positiva con las concentraciones de colesterol en sangre (Amundsen *et al.*, 2002) y con problemas de arteriosclerosis (engrosamiento y endurecimiento de arterias), que predisponen a contraer enfermedades cardiovasculares (ECV). De tal forma que el consumo total de grasas, así como

la composición de ácidos grasos en la dieta, juegan un papel importante en el desarrollo de ECV y otros problemas de salud como, obesidad y diabetes tipo dos (Andersson *et al.*, 2002).

El consumo de grasas saturadas favorece la síntesis de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y eleva los niveles de colesterol sérico, dando lugar a una hipercolesterolemia. Mientras que el colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (LHD) tienen una relación inversa con el riesgo de presentar ECV (Carrillo *et al.*, 2005; Lahoz y Mostaza, 2007; O'Donnell y Elousa, 2008).

En México, las ECV constituyen un problema de salud pública, y al igual que ocurre en otros países del mundo, como resultado de esta escalada epidemiológica; las enfermedades cardiovasculares representan una de las principales causas de muerte en el país, las cifras señalan que las enfermedades cardiovasculares cobran la vida de ocho a diez mexicanos cada hora, con alrededor de 70,000 decesos al año (SSA, 2010).

Datos arrojados por la SSA en 2010, reporta que actualmente un tercio de los mexicanos padece hipertensión arterial, 10% es diabética y más de 40% registra niveles altos de colesterol, la hipertensión arterial afecta a más de 30 por ciento de hombres y mujeres mayores de 20 años, y la mitad de la población mantiene cifras indeseables de colesterol, pero las dos terceras partes tienen obesidad y sobrepeso. Esto se agrava si se considera que 70 por ciento de los mexicanos adultos presentan sobrepeso u obesidad, que son dos de los principales factores de riesgo para desarrollar enfermedades crónicas como diabetes, hipertensión arterial y alteración de los niveles de colesterol (SSA, 2010).

Los estudios epidemiológicos en campo, de los trastornos cardiovasculares, han permitido identificar, a través de metodologías correlacionales, un conjunto de variables denominadas

"Factores de Riesgo" relacionadas con la mayor incidencia de dichos trastornos. Estos factores indican que las determinantes de las enfermedades de este tipo son complejas y multicausales (SSA, 2001).

La epidemiología cardiovascular se caracteriza por tener una etiología multifactorial, los factores de riesgo cardiovascular se potencian entre sí y, además, se presentan frecuentemente asociados (SSA, 2010). La identificación de los principales factores de riesgo modificables de las enfermedades cardiovasculares permite su prevención, de esta manera, los factores de riesgo cardiovascular modificables más importantes son: la hipertensión arterial, la obesidad y el consumo de tabaco. Además se pueden considerar otros factores como la diabetes, el sedentarismo y el consumo excesivo de alcohol.

La relación entre el consumo de grasas y el cáncer se ha venido estudiando desde hace más de dos décadas. Sin embargo, todavía es objeto de debate a pesar de que ha habido aumentos sustanciales en los estudios científicos y las mejoras realizadas en las tablas de composición de alimentos, metodologías epidemiológicas y métodos estadísticos (FAO, 2010). En el 2012 la FAO publicó un estudio sobre las grasas y ácidos grasos en la salud humana, donde analiza el carácter altamente multi-factorial de los cánceres atribuible a su complejidad, estableciendo dos cuestiones cruciales para entender por qué es difícil llegar a una conclusión firme sobre la relación entre el consumo de grasa y el cáncer.

La primera cuestión es: ¿Hay pruebas convincentes de que la obesidad aumenta los riesgos de cáncer colorrectal (CCR), cáncer de endometrio y el cáncer de mama posmenopáusico?, ¿Contribuye la grasa total a la obesidad? aunque los estudios realizados por expertos afirman que no existe una relación directa entre la cantidad total de grasa y la obesidad, y que es el

desequilibrio de la energía, los nutrientes que contribuyen a ella, y estilos de vida que son responsables de la obesidad (Chavarro *et al.* 2008).

En cuanto al cáncer colorrectal se refiere, a causa de la fuerte correlación entre la ingesta de energía y de grasa total en los países desarrollados en los que se han llevado a cabo la gran mayoría de los estudios importantes (Astorg *et al.*, 2004), se puede confundir la energía con cualquier efecto de la grasa total. Situación que se ha podido demostrar, dos estudios caso-control sobre el cáncer colorrectal (Gerber, 2009), en los que el ajuste de energía realizado mediante el método residual no probó la existencia de relación entre la ingesta de grasa total y un mayor riesgo (Theodoratou *et al.*, 2007). El incremento del riesgo de padecer cáncer colorectal persistió aun cuando el ajuste se realizó para la energía total (Hu *et al.*, 2007). Teniendo en cuenta los resultados anteriores, el comité de expertos (FAO/WHO) concluyó que es muy probable que la grasa total se confunda con el efecto de la energía y que la grasa total por sí misma no contribuya al riesgo de padecer cáncer colorectal.

En el caso de cáncer de mama, no todos los resultados de los estudios realizados por la FAO lograron un consenso sobre la relación entre el consumo de grasa total y el cáncer de mama (BC). El Fondo Mundial para la Investigación sobre el Cáncer (WCRF) y el Instituto Americano para la Investigación del Cáncer (AICR) informaron en 2007 sobre la existencia de una relación sugerente pero limitada (FAO, 2012). Un estudio de la Iniciativa para la Salud de las Mujeres (Prentice *et al.*, 2006) informó sobre la reducción del riesgo de BC como resultado del seguimiento de una dieta baja en grasas, aunque la transcendencia de este estudio no fue completamente convincente.

La grasa animal se ha relacionado con el cáncer colorrectal, el cáncer de endometrio y el de ovario. En estos tres tipos de cáncer, dado que la grasa animal es el componente más común entre los alimentos de alta densidad energética, su efecto puede no distinguirse claramente de la acción de la energía. Además, en el caso del cáncer colorrectal, este efecto puede verse afectado de forma similar debido a varias características de la carne (Theodoratou *et al.* 2008). Los datos son demasiado escasos para llegar a una conclusión sobre el cáncer de ovario y de endometrio, pero tanto el WCRF como el AICR (2007) pusieron de manifiesto que existe una evidencia sugerente pero escasa de que aquellos alimentos que contienen grasas animales, con una alta densidad energética, incrementan el riesgo de cáncer colorrectal.

## **4.2. Metabolismo de lípidos en rumiantes**

### **Metabolismo microbiano en rumen**

Los microorganismos del rumen modifican rápida y ampliamente los lípidos de la dieta durante su permanencia en el rumen y en condiciones típicas, muy poca grasa escapa ilesea del rumen. Los microorganismos del rumen modifican los lípidos de varias formas: Los ácidos grasos aparecen típicamente en forma esterificada, al menos en las dietas convencionales y los microorganismos del rumen lo hidrolizan rápida y ampliamente hasta ácidos grasos libres y glicerina y otros compuestos dependiendo de la naturaleza del lípido consumido. Tras la lipólisis se produce la biohidrogenación. Como la biohidrogenación depende de la presencia de un grupo carboxilo libre, la lipólisis es uno de los primeros pasos obligatorios en la modificación de los ácidos grasos esterificados que aporta la dieta (Church, *et al.*, 2006). La cuantía de la hidrólisis depende de la naturaleza del lípido

ingerido; los aceites vegetales como el aceite de linaza son hidrolizados más completamente (sobre el 90%) que los aceites de pescado que experimentan una hidrólisis inferior al 50% (Byern y Schelling, 2006).

Además de modificar los ácidos grasos de la dieta, los microorganismos del rumen pueden sintetizar una amplia gama de ácidos grasos de cadena impar y cadena ramificada, muchos de estos con configuración *trans* (Church *et al.*, 2006). Los protozoos al igual que las bacterias realizan la síntesis de *novo* de ácidos grasos de cadena larga (Byern y Schelling, 2006). Los precursores usados para la síntesis de ácidos grasos incluyen sustratos de cadena impar, de cadena par y de cadena ramificada, reflejándose en el producto los sustratos iniciadores según se trate de cadena impar, par o ramificada. Los sustratos con cadena impar de carbonos, incluyendo los ácidos propiónico y valérico, dan origen a la formación de ácido grasos de cadena impar; los ácidos butírico y caproico terminan siendo ácidos grasos con número par de carbonos y los isoácidos, isobutírico e isovalérico, dan origen a ácidos grasos de cadena impar, par y ramificada (Byers y Schelling, 2006). Los microorganismos del rumen modifican también la longitud de la cadena de los ácidos tanto mediante  $\alpha$ -oxidación como  $\beta$ -oxidación.

Las bacterias y protozoarios del rumen incorporan fácilmente ácidos grasos de la dieta a los lípidos celulares y esto inhibe la síntesis de *novo*, así, la inclusión de grasa en la dieta especialmente el de aceites de pescado, reducen la síntesis microbiana de ácidos grasos (Church *et al.*, 2006).

Los microorganismos del rumen no almacenan triglicéridos y los ácidos grasos presentes son principalmente fosfolípidos de membranas o ácidos grasos libres (Byers y Schelling, 2006).

### **4.3. Digestión y absorción intestinal.**

Church *et al.* (2006) mencionan que en los rumiantes, la mayor parte de la grasa que llega al intestino es en forma de ácidos grasos no esterificados, altamente insaturados y ligados de forma no iónica en un complejo insoluble a la materia particulada. El pH de la ingesta que fluye del abomaso es muy bajo y se mantiene algo bajo durante su recorrido a través de la mitad proximal del intestino delgado debido a la limitada actividad tampón de las secreciones pancreáticas que presentan niveles bajos de bicarbonato. Como consecuencia, los ácidos grasos son ionizados con este pH y los jabones de ácidos grasos insolubles en el rumen son solubilizados, aumentando la absorción tanto de los ácidos grasos como de los minerales.

De manera general, se puede encontrar que la digestibilidad del extracto etéreo (EE) en los rumiantes es menos en comparación a los no rumiantes, debido principalmente a la importante fracción de material no lipídico que aparece dentro del extracto etéreo que aparece en las dietas consumidas normalmente. Los rumiantes suelen digerir en menos grado los ácidos grasos insaturados que los no rumiantes. Sin embargo, la situación es diferente para los ácidos grasos saturados, que son digeridos de forma más completa en el intestino de los rumiantes que el de los no rumiantes (Van-Lier y Regueiro, 2008). Esencialmente, estamos hablando que, los ácidos grasos de cadena larga, no abandonan el tracto digestivo antes de llegar al intestino delgado (Van-Lier y Regueiro, 2008) y, como consecuencia, con la contribución de la síntesis microbiana en el rumen, las concentraciones de lípidos que llegan al duodeno suele superar a la cantidad ingerida.

#### **4.4. Digestión y absorción de los lípidos de la dieta.**

La entrada de los lípidos dietéticos en el intestino delgado va acompañado por la entrada de una cantidad de lípidos adicionales, que representan alrededor de la mitad de los anteriores, en forma de secreciones intestinales (Martínez *et al.*, 2010), principalmente de origen biliar. Esto aumenta notablemente la fracción de fosfatidilcolina que se mantiene a lo largo del resto del duodeno y parte anterior del yeyuno (Martínez *et al.*, 2010), siendo que la hidrólisis de los fosfolípidos tiene lugar en la porción media del yeyuno. Los lípidos absorbidos, tanto de origen exógeno como endógeno, deben de ser transferidos a la fracción micelar antes de que pueda iniciarse su absorción, una actividad que es realizada principalmente por los componentes de la bilis. Aunque menos abundante desde el punto de vista cuantitativo, la fosfatidil etanolamina, de origen tanto microbiano como ciliar, resulta más eficaz que la fosfatidil colina que aparece en mayores cantidades. Esto se debe a su eficacia con los valores normalmente más bajos de pH que predominan. La fosfatidil etanolamina, junto con el ácido taurocólio, permite la solubilización de los ácidos grasos y su transformación en micelas en la porción superior del intestino delgado en presencia de un pH ácido (Church *et al.*, 2006).

El 20% aproximadamente de los ácidos grasos absorbidos en el intestino delgado son absorbidos en la parte superior del yeyuno, donde el pH suele ser 4.0 o menos. Otro 60% se absorbe en el resto del yeyuno, alcanzándose una absorción casi completamente antes del íleon. Por consiguiente, la mayoría de los ácidos grasos son absorbidos en el intestino delgado en una región que mantiene un medio ambiente muy ácido en contraste con lo que sucede en los no rumiantes, ya que en los mismos, la absorción se produce en un medio más

neutro. Cuando los rumiantes son alimentados con dietas que contienen lípidos protegidos, la digestión de los lípidos se parece a la de los no rumiantes en que los 2-monoglicéridos son importantes en la solubilización micelar de los ácidos grasos (Nguyen *et al.*, 2008).

La absorción de los lípidos se lleva a cabo en varias etapas. Los lípidos absorbidos se difunden en las células de las vellosidades, la reesterificación tiene lugar en las membranas del retículo endoplásmico liso, la biosíntesis de proteína se produce en el retículo endoplásmico rugoso, la síntesis final de quilomicrones tiene lugar en el aparato de Golgi y los quilomicrones son liberados hacia el espacio intercelular mediante exocitosis (Nguyen *et al.*, 2008). Posteriormente penetran en la lámina propia a través de huecos en la membrana basal y siguen hacia las lacteales linfáticas. En resumen, los ácidos grasos son absorbidos hacia el interior de las células intestinales, re-esterificados y reunidos son tri, mono y diglicéridos, fosfolípidos, colesterol y apoproteínas y salen a través de las células hacia el sistema linfático. Los ácidos grasos con menos de 14 carbonos penetran directamente a la sangre y son desviados hacia el hígado que los oxida rápidamente. La velocidad de absorción disminuye al aumentar la longitud de la cadena y con el mayor grado de saturación.

#### **4.5. Resíntesis y transporte de lípidos.**

Triglicéridos. La síntesis de triglicéridos puede tener lugar bien mediante la vía 2-monoglicerido como en los animales no rumiantes o mediante la vía alfa-glicerofosfato. Como normalmente aparecen poco o ningún monoglicérido en la mezcla de ácidos grasos absorbidos como resultado de la lipólisis que tiene lugar en el rumen, normalmente la vía 2-monoglicerido solamente tiene una mínima importancia en los rumiantes. Sin embargo, la vía

2-monoglicérido es totalmente funcional y adquiere una importancia primaria cuando se ingieren lípidos que escapan del rumen y aportan cantidades sustanciales de grasa en forma de glicéridos al intestino delgado. La glucosa sirve como fuente de glicerina, con pequeñas cantidades disponibles de glicerofosfato procedentes de la utilización de glicerofosforilcolina tras la acción de la lisofosfolipasa (Nguyen *et al.*, 2008).

Los ácidos grasos esenciales son conservados por los rumiantes mediante su absorción preferencial y esterificación en forma de fosfolípidos. Aunque los fosfolípidos representan solamente el 20% del total de ácidos grasos esterificados, contienen sobre el 50% del ácido linoleico, asegurando su conservación. La resíntesis de 1-acil lisolecitina es la vía predominante. La absorción es rápida y la esterificación preferencial para el ácido linoléico (Martínez *et al.*, 2010).

#### **4.6. Síntesis de lipoproteína.**

Las fracciones absorbidas de lípidos son ensambladas en partículas de lipoproteínas en el enterocito y las dos lipoproteínas principales son quilomicrones con 75 - 1,000 nm de diámetro y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) de 25 a 75 nm de diámetro. El transporte de triglicéridos se efectúa mediante esas fracciones de lipoproteínas. Los rumiantes difieren de los no rumiantes en varios aspectos muy importantes relacionados con la síntesis de lipoproteína. En los rumiantes, los ácidos grasos absorbidos se incorporan predominantemente a VLDL en lugar de los quilomicrones, mientras que el hecho inverso se lleva a cabo en los no rumiantes. La razón de esta aparente dicotomía es mecánica. La absorción de los lípidos en los rumiantes es un proceso más o menos continuo que actúa con

una velocidad reducida, mientras que en los animales no rumiantes aparece orientado por la ingestión de tomas de alimentos (Church, 2006).

#### **4.7. Biohidrogenación de ácidos grasos en rumiantes**

En el rumen se lleva a cabo un extenso metabolismo de lípidos teniendo un impacto definitivo en el perfil de ácidos grasos disponibles para la absorción y la utilización de los tejidos (Bauman *et al.*, 2003a). Bauman *et al.* (2003a) mencionan que al momento del ingreso de los lípidos del alimento al rumen se lleva a cabo dos procesos principales, la hidrólisis de los enlaces éster en los lípidos y la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados.

En el proceso de biohidrogenación bacteriana a nivel ruminal, Dan *et al.* (2012) dividen a las bacterias ruminales en dos grupos basados en las reacciones y en los productos finales de la biohidrogenación. El grupo A son capaces de hidrogenar el ácido linoleico y ácido linolénico a ácido trans-vaccénico como producto final. En el grupo B se encuentran las bacterias que usan el ácido trans-vaccénico como sustrato obteniendo ácido esteárico como producto.

Desde 1951, Raymond Reiser incubó ácido linolénico en líquido ruminal y demostró la formación de ácidos grasos trans en el rumen. Utilizando líquido ruminal de borregos fistulado en condiciones de pastoreo, años después en 1955 Shorland y colaboradores publicaron en la revista Nature confirmando la existencia de ácidos grasos trans como resultado de la biohidrogenación ruminal. Trabajos subsecuentes (Ward *et al.*, 1964; Wilde y Dawson, 1966) confirmaron la formación de una matriz de ácidos grasos C<sub>18</sub>, con varios grados de insaturación e isómeros posicionales incluyendo dienos conjugados. De la misma forma, en un clásico experimento llevado a cabo por Kepler y Tove (1967) mostraron que la

producción del isómero *c*-9, *t*-11 CLA es a través del ácido linoleico por la bacteria *B. fibrisolvens*. Cuando algunas bacterias son incubadas usando ácido linolénico como sustrato, el isómero *c*-9, *t*-11, *c*-15 C<sub>18:3</sub> se produjo, que posteriormente fue usado para ser saturado a ácido vaccénico (Harfoot y Hazlewood, 1988). El isómero *c*-9, *t*-11 CLA no se forma a partir del ácido linolénico (Khanal y Dhiman, 2004). Siendo que la biohidrogenación del ácido linoleico y linolénico ocurre de manera similar. La primera reacción de la biohidrogenación del ácido linoleico es la isomerización donde el doble enlace posicionado en el carbono 12 es transferido al carbono 11 formando el *c*-9, *t*-11 CLA. Ambos pasos son llevados a cabo por un grupo A de bacterias, mientras que el último paso de biohidrogenación de ácido oleico a esteárico es llevado a cabo por un grupo B de bacterias (Harfoot y Hazlewood, 1988; Bauman *et al.*, 2003b). La enzima responsable de la conjugación de los dobles enlaces *cis*-9, *cis*-12 es identificada como ácido linoleico isomerasa (EC 5.3.1.5), siendo esta una enzima de partículas unidas a la membrana celular de las bacterias (Griinari y Bauman, 1999), se ha demostrado un requerimiento absoluto de sustratos *cis*-9, *cis*-12 y un grupo carboxilo libre (Khanal y Dhiman, 2004) características encontradas en el ácido linoleico y linolénico. De manera similar, el ácido linolénico primeramente es isomerizado de *cis*-12 a la posición *c*-9, *t*-11, *c*-15 C<sub>18:3</sub> que luego ambos enlaces *cis* son reducidos para producir ácido vaccénico, el paso final es similar a la del ácido linoleico. El ácido vaccénico es el intermediario común en el proceso de biohidrogenación tanto del ácido linoleico como del linolénico. Esta es la ruta predominante de biohidrogenación ruminal del ácido linoleico y linolénico. Se ha encontrado que existe una estrecha relación producto-precursor entre ácido vaccénico y CLA cuando se

incrementa las concentraciones de ácido linoleico en la dieta de corderos ya sea en condiciones *in vivo* o *in vitro* (Bauman *et al.*, 2003b).

Cuando la dieta de los rumiantes es pobre en forrajes y elevado en concentrados, en vacas lecheras, las concentraciones de los isómeros del CLA en la leche cambian, esto es, el isómero *c-9, t-11* se mantiene bajo mientras que el isómero *trans-10, cis-12* es el predominante en la grasa láctea (Griinari *et al.*, 1998). Esta situación llevo a que Griinari y Bauman *et al.* (2003a) propusieron otra ruta para la síntesis ruminal del *trans-10, cis-12* CLA involucrando bacterias *c-9, t-10* isomerasas con la formación de dos dobles enlaces *t-10, c-12* como el primer paso en el proceso. El *c-12, t-11* isomerasa del *B. fibrisolvens* puede hidrogenar el *t-10, c-12* (Bauman *et al.*, 2003b) de esta forma producir el ácido *t-10* octadecenoico. Otras bacterias ruminales como *Megasphaera elsdenii* YJ-4 tiene la capacidad de producir este isómero del CLA (Kim *et al.*, 2000). El *t-10, c-12* es formado a partir del ácido linoleico únicamente, caso contrario con el isómero *c-9, t-11* que se puede formar a partir del ácido linoleico y ácido linolénico.

Es importante mencionar que el pH ruminal juega un papel crucial para mantener un ambiente ruminal adecuado para el *B. fibrisolvens* involucrados en la biohidrogenación del ácido linoleico y linolénico. Siendo que un pH ruminal superior a 6.0 tiene efectos positivos en la concentración de ácido vaccénico y CLA en el rumen (Troegeler-Meynadir *et al.*, 2003; Martin y Jenkins, 2002).



## **Ingredientes en la dieta que incrementan la producción de CLA**

Conociendo los mecanismos por los cuales se producen los diferentes isómeros de CLA, es posible manipular la dieta ofrecida a los animales para poder incrementar las concentraciones de isómeros de interés. Existen diversos estudios que han logrado incrementar la concentración del CLA mediante una suplementación adecuada en la dieta, los primeros indicios de estos lo expuso Riel en 1963, donde observó los cambios en las concentraciones de CLA en la leche de vaca, quien comprobó que las vacas en primavera duplicaban la concentración de isómeros de CLA en grasa láctea en comparación del invierno, esto debido a que en la primavera las vacas se mantenían bajo condiciones de pastoreo y en invierno la alimentación era a base de una mezcla de concentrados (sin pastoreo). De tal manera que Arousseau *et al.* (2004) encontraron que borregos bajo pastoreo la composición de triglicéridos, los niveles de ácido palmítico (C16:0), ácidos grasos monoinsaturados (MUFA), ácido linoleico (C18:2-6) es reducida y teniendo una alta proporción de ácido esteárico (C18:0), ácido linolénico (C18:3n-3) y *cis9, trans11* C18:2 CLA. En estudios enfocados en carne de novillos, (French *et al.*, 2000) combinando diferentes niveles de concentrado y pastoreo, encontró que solamente en pastoreo los PUFA en la grasa intramuscular aumentan considerablemente a comparación de otros sistemas (concentrado con pastoreo). Así mismo, al disminuir el concentrado en la dieta y con el aumento del pastoreo, provoca una disminución lineal en la concentración de grasa intramuscular, UFA y la proporción de los PUFA n-6: n-3 además del incremento lineal en la relación PUFA:SFA y concentración de CLA (French *et al.*, 2000).

Así mismo, la suplementación con aceites de pescado (Donovan *et al.*, 2000), y algunas especies de algas marinas (Franklin *et al.* 1999; Or-Rashid *et al.*, 2007) son uno de los ingredientes que han dado resultados favorables dado que son ricos en ácidos grasos de cadena larga (20 a 22 carbonos). Los mecanismos que intervienen para que los isómeros de CLA incrementen en la leche al suplementar aceite de pescado y algas no está todavía muy bien identificados, aunque se ha propuesto que los ácidos grasos polinsaturados de cadena larga inhiben la completa biohidrogenación de los C18:2 en el rumen mediante la inhibición del desarrollo de bacterias responsables de hidrogenar el ácido vaccénico a ácido esteárico (Griinari y Bauman, 1999).

Por otra parte, suplementando con aceite de girasol y soya (Demeyer y Doreau, 1999), la proporción del contenido de ácido vaccénico a nivel duodenal es elevada, atribuible al alto contenido de ácido linoleico en dichos aceites. Este efecto no es igual en todos los casos, por ejemplo, al suplementar aceite de girasol o aceite de pescado con almidón no hay cambios en la producción ruminal de ácido vaccénico y en la síntesis endógena de CLA (Laurence *et al.*, 2010). La harina de alga en la dieta de rumiantes (Or-Rashid *et al.*, 2007) incrementa la producción ruminal de ácido vaccénico, contribuyendo su paso a duodeno y a tejidos del animal, atribuyendo a las algas un efecto inhibitor en la reducción del trans 18:1 a 18:0 (ácido esteárico) en el proceso de biohidrogenación.

Vasta *et al.* (2009) al suplementar con taninos en la dieta de corderos (a base concentrado) se redujo la concentración de ácido esteárico y se incrementó la concentración de ácido vaccénico en líquido ruminal. En general, al incluir taninos en la alimentación de rumiantes se reduce la acumulación de ácidos grasos saturados en sangre y el ácido ruménico (*cis*9,

*trans11* CLA) en carne incrementa el doble (Vasta *et al.* 2009). Combinando ingredientes con aportes altos de taninos más un suplemento como el polietilenglicol, se ha logrado que los niveles de ácido vaccénico se incrementen al igual que el isómero *cis9, trans11* CLA y ácido linolénico (C18:3) (Vasta *et al.*, 2007).

El incremento en la concentración del CLA en la carne de rumiantes, se sugiere que tanto los taninos (Vasta *et al.* 2007), los ácidos grasos insaturados (Margarida *et al.*, 2007) tienen un efecto inhibitorio en los microorganismos encargados de llevar a cabo la biohidrogenación en el rumen, esto tiene como consecuencia una mayor acumulación de ácido vaccénico en rumen, incremento en el flujo duodenal de vaccénico (mayor absorción) y en consecuencia la acumulación de esta en los tejidos en donde la enzima  $\Delta^9$ -desaturasa la convierte en el isómero *cis9, trans11* CLA. De la misma forma que la defaunación ruminal sobrelleva a altos niveles tisulares de los isómeros *trans-10, cis-12*-CLA, ácidos grasos saturados y baja relación PUFA:SFA y PUFA n-3 en músculo de corderos (Yáñez-Ruiz *et al.*, 2006).

#### **4.8. Interacciones del CLA con otros componentes nutricionales de la dieta**

Se sabe que al incrementar la proporción de aceites vegetales en los alimentos concentrados se incrementa el flujo duodenal de CLA (Lor *et al.*, 2004). Sin embargo, el flujo duodenal de CLA en las dietas basales es generalmente baja. Sin embargo, Sackmann *et al.* (2003) usando dietas consistentes en diferentes niveles de forraje y suplementados con aceite de girasol, encontraron que menos del 0.23% del ácido linoleico es convertido en el rumen, en novillos, independientemente del forraje de la dieta o el contenido de aceite.

En el caso de grasas protegidas en la dieta de rumiantes, ha generado interés por los efectos negativos que pudieran estar causando los polímeros de la cubierta protectora, como es el

caso de las sales de calcio (usados para proteger a las grasas) en la digestión y absorción de los ácidos grasos. En un intento de modelar el metabolismo ruminal y la digestión intestinal de ácidos grasos en los rumiantes, Chalupa *et al.* (2003) propusieron que el coeficiente de digestión para ácidos grasos en rumiantes derivado de sales de calcio, fueron substancialmente mejor que los coeficientes para ácidos grasos libres que entran al intestino delgado. Siendo que en otros estudios, han demostrado que el uso de sales de calcio tiene poco o ningún efecto sobre la digestibilidad aparente de los ácidos grasos individuales en el intestino delgado (Enjalbert *et al.*, 1997; Perfield *et al.*, 2004), esto sugiere que los compuestos que se emplean para proteger a los ácidos grasos no repercuten en la digestibilidad y metabolismo de los demás nutrientes de la dieta.

Fisiológicamente, la suplementación con CLA ha sido relacionado con la reducción en la concentración de leptina en sangre, aunque esto ha sido demostrado solo en humanos y en animales de laboratorio (Medina *et al.*, 2000; Rahman *et al.*, 2001). En ratas alimentadas con aceite de maíz (Iritani *et al.*, 2000) se incrementó las concentraciones plasmáticas de leptina y aumentó la expresión del ARNm leptina en comparación a los alimentados con dietas libres de aceite. Caso contrario, Gillis *et al.* (2004) en novillas, al suplementar diferentes niveles de CLA protegido en diferentes periodos, no encontraron efectos en las concentraciones de leptina en sangre, tampoco en tejido adiposo. Geary *et al.* (2003) reportaron una positiva correlación entre la concentración sérica de leptina y el grado de marmoleo de la carne ( $r = 0.35$  y  $0.50$ ), profundidad de la grasa ( $r = 0.34$  y  $0.46$ ) y grado de calidad ( $r = 0.36$  y  $0.39$ ) en dos líneas genéticas de ganado vacuno. Otros trabajos que han reportado una alta correlación entre la concentración de leptina en sangre y la grasa son

Daniel *et al.* (2002) para el caso de ovejas, quienes identificaron una alta correlación entre el espesor de la grasa y la concentración media de leptina en plasma ( $r = 0.72$ ,  $P < 0.02$ ).

De acuerdo con las funciones de la leptina, de disminuir el apetito por estimulación de péptidos anorexigénicos (producen pérdida de apetito) y supresión de la producción de los péptidos orexigénicos, se puede suponer que hay una disminución en la absorción de los demás nutrientes de la dieta, trayendo como consecuencia una menor absorción y por tanto menor desarrollo corporal de los animales sometidos a dietas con niveles elevados de CLAp, pero de acuerdo con los trabajos mencionados se demuestra lo contrario .

Por lo anterior, se puede decir que, la concentración de leptina en sangre se puede asociar con la adiposidad de los animales y se puede sugerir como un factor para la correlación con características de la canal.

#### **4.9. Digestibilidad *in vitro***

La digestibilidad hace referencia a la cantidad de alimento que desaparece en el tracto digestivo o en un procedimiento de laboratorio debido a su solubilización o ataque de los microorganismos anaerobios ruminales; mientras que, la degradabilidad hace referencia a la cantidad de alimento que se descompone en sus elementos integrales, mediante procesos biológicos o químicos (Giraldo *et al.*, 2004). A diferencia de la degradabilidad, la digestibilidad de los forrajes permite estimar la proporción de nutrientes presente en el alimento (Giraldo *et al.*, 2004).

El valor nutritivo de los alimentos está determinado por la biodisponibilidad de los nutrientes y la dinámica de los procesos de solubilización e hidrolisis en el tracto intestinal, los

parámetros de la cinética de fermentación describen la digestión y caracterizan propiedades intrínsecas del alimento que limitan su disponibilidad para el rumiante (Arce *et al.*, 2003). Las pruebas *in vitro* determinan la proporción de nutrientes consumidos que pueden ser absorbidos y utilizados por el animal y dependen de un activo crecimiento y desarrollo de la población microbiana del rumen (Bruni y Chilibroste, 2001).

La digestibilidad de los nutrientes de la dieta, forrajes u otros componentes puede ser estimada por métodos biológicos, *in vivo*, *in situ*, e *in vitro*. De acuerdo a Muro (2007) el primer método se caracteriza por ser muy costoso y difícil en el manejo de los animales pero los demás son más accesibles. En la digestibilidad *in situ* se simula parte de los procesos digestivos en el rumen, se requiere de menos animales y para el caso de digestibilidad *in vitro* es más fácil debido a que la mayor parte del procedimiento es llevado a cabo en laboratorio. La prueba de digestibilidad *in vitro* pretende simular la degradación de un alimento en los pre-estómagos de un rumiante utilizando los microorganismos del rumen y simulando las condiciones anaeróbicas, temperatura, pH y ausencia de luz en el sistema rumen-abomaso, la prueba *in vitro* comprende la incubación de la muestra con los microorganismos del rumen en un medio nutritivo mineral y un amortiguador, este tratamiento equivale la digestión ruminal.

#### **4.10. Técnica de producción de gas**

La técnica de producción de gas se diferencia de otras técnicas *in vitro* e *in situ*, en que no solo determina la extensión, sino también la cinética de degradación del alimento a través del volumen de gas liberado, directamente como un producto de la fermentación, principalmente cuando se produce mayor proporción molar de acetato y butirato, indirectamente desde la

neutralización del fluido ruminal (Posada, 2005). Este gas es capaz de empujar el émbolo de la jeringa o de producir cierta cantidad de presión en los frascos para registrar la lectura en mililitros (mL) de gas, a diferentes horas de incubación e interpretar los datos obtenidos (William, 2000). Las primeras pruebas de degradabilidad utilizando la técnica *in vitro* por producción de gas (TIVPD) se realizaron en la Estación Experimental Weende en la Universidad Goettingen en Alemania y comenzaron antes de 1860 (Rymer, 2000).

Hay técnicas de producción de gas desarrolladas para la evaluación de la calidad de los alimentos bajo dos criterios para medir los volúmenes de gas; 1) el gas medido colectado a presión atmosférica y su volumen es medido directamente o 2) el gas acumulado medido en un contenedor con un volumen fijo y el volumen es calculado por los cambios de presión. Las técnicas de gas disponibles son: a) el método de gas Hohenheim o el método de Menke (Menke *et al.*, 1979); b) el sistema de desplazamiento de líquido (Beuvink *et al.*, 1992); c) método manométrico (Waghorn y Stafford, 1993); d) sistema de transductor de presión manual (Theodorou *et al.*, 1994), computarizado (Pell y Shofield, 1993) y la combinación del transductor de presión y el sistema de liberación de gas (Davies *et al.*, 1995; Cone *et al.*, 1996).

La medición de la producción de gas como una aproximación a la fermentación ruminal no es nueva. McBee (1995) describió un método manométrico para medir la producción de gas generado por una mezcla de bacterias ruminales que posteriormente fue sufriendo diferentes modificaciones. Por otro lado Menke *et al* (1979; 1998) en Alemania describieron un sistema *in vitro* en el cual, la producción de gas de un sustrato es usado para la medición de la digestibilidad y contenido de energía metabolizable. El método utiliza una jeringa en la

cual se incubaba el sustrato en un medio con buffers e inóculo de fluido ruminal. La producción de gas es medida a diferentes intervalos de tiempos por la posición del pistón en la jeringa. Otros investigadores han trabajado en métodos para simplificar y computarizar la medición de gas (Pell y Schofield, 1993).

Los transductores de presión ofrecen una vía sencilla y precisa de medir la producción de gas. La diferencia más importante en las variantes reportadas (Mauricio *et al.*, 1999), radica en la evacuación o no del gas generado durante la fermentación entre los intervalos de medición. Theodorou *et al.* (1998) reportaron perturbaciones en el crecimiento microbiano por no extraer el gas generado en los diferentes intervalos de tiempo. Otra diferencia encontrada en los instrumentos es el principio básico de los sensores unos leen por diferencias con la presión atmosférica (tipo gauge) y otros son los sensores de vacío, los cuales dan lecturas independientes de la presión atmosférica. Todos los transductores miden, las diferencias de presión generadas en el espacio que queda libre dentro de la botella de incubación, descontándole el espacio ocupado por el tapón y la muestra incubada en la fase líquida (Bruni, 2001).

Para la determinación de la producción de gas, es necesario considerar todos los factores que afectan a los sistemas *in vitro* en general, ya que sus efectos alteran tanto la actividad microbiana en forma directa como el gas generado durante la fermentación. Recientemente, se ha publicado una exhaustiva revisión de principios químicos y físicos que están asociados con el uso de la técnica de producción de gas (Theodorou *et al.*, 1998).

## **Particularidades de la técnica de producción de gas *in vitro***

1. Tipo de sustrato. Los henos de leguminosas se degradan a una tasa más alta que los henos con un nivel más elevado de gramíneas (López *et al.*, 1998).
2. Especie donadora del inóculo. Las diferencias en la actividad de los microorganismos del rumen de diferentes especies o de la misma especie, pero con diferentes dietas, significa que todas las descripciones de producción de gas deberán describir las condiciones del animal donado (Williams, 2000).
3. Tampón empleado. Los datos de producción de gas serían más fácilmente interpretados si un sistema tampón basado únicamente en bicarbonato o fosfato fuera utilizado. Sin embargo, para lograr un pH menor a seis, una mezcla de bicarbonato-fosfato es necesario (Pell y Schofield, 1993).
4. pH del medio. Los microorganismos ruminales son muy sensibles en el cambio de pH y la mayoría prefieren un rango de pH entre 6.5 a 6.8. Las bacterias celulolíticas, en particular, son más sensibles a pH bajo que las bacterias amilolíticas (Grant y Mertens 1992a). Hoover *et al.* (1984) mostró que un pH alto (7.5) o bajo (5.5) severamente compromete la digestión de la fibra.
5. Aditivos nutricionales. Para evitar que factores no fibrosos limiten la fermentación de la fibra, Grant y Mertens (1992b) recomiendan utilizar aditivos nutricionales para asegurar la máxima digestión, especialmente con sustratos bajos en proteína y microminerales.
6. Número de microorganismos. Aunque los protozoarios hacen una significativa contribución a la digestión de las fibras, su remoción permite que bacterias colonicen las plantas, cubriendo el nicho anteriormente ocupado por ellos, demostrando que la

actividad de los protozoarios y de las bacterias parece ser intercambiable. Hidayat *et al.* (1993) señalaron que si todos los nichos de degradación disponibles son colonizados por bacterias o protozoarios, la adición de población complementaria no incrementa la tasa o la extensión de la fermentación.

7. Dieta del donador. Borba *et al.* (2000) señalan una posible relación inversa existente entre la producción de gas y el porcentaje de proteína de la dieta del donador.
8. Control de la temperatura. La actividad microbiana, el volumen de gas y las presiones cambian con la temperatura, por lo que esta debe de estar en 39°C (Schofield, 2000).
9. Agitación. El CO<sub>2</sub> tiene una fuerte tendencia a formar soluciones supersaturadas en medio acuso. Si esto ocurre, la presión o el volumen obtenidos en las lecturas serán incorrectos. Afortunadamente esta tendencia puede ser reducida por suave agitación ocasional (Schofield, 2000).

### **Alternativas en la técnica de producción de gas**

La técnica de producción de gas requiere de pocos animales e incluso algunos autores se han enfocado al uso de inóculo alternativo para la incubación *in vitro* substituyendo el líquido ruminal por heces del animal lo cual evita el uso de animales canulados y con ellos los costos de mantenimiento de estos (Mauricio, 2001). Otro aspecto importante es la cantidad de materia requerida para usar la técnica va de 0.1 a 1 g, lo que lo hace apropiada bajo situaciones en las cuales los materiales disponibles son limitados (Williams, 2000). Finalmente, los costos de las pruebas de laboratorio son generalmente bajos que los requeridos para el mantenimiento de los animales. El equipo inicial requerido puede ser

bastante caro para los sistemas automatizados, pero como las horas para la medición se reducen significativamente, los costos del equipo se compensan con los costos de mano de obra en la técnica *in situ* o *in vivo* (Carro *et al.*, 1994; Williams, 2000).

La falta de uniformidad en su metodología es un factor que hace difícil comparar resultados de diferentes grupos de investigación. Es necesario conocer los tiempos de colección del inóculo y la dieta del animal donador (Rymer *et al.*, 2005; Getachew, 2002).

### **Degradación de la materia seca**

La degradabilidad de la materia seca, hace referencia a la cantidad de alimento que se descompone en sus elementos integrales, mediante procesos biológicos o químicos (Giraldo *et al.*, 2004). Para cuantificar la dinámica de los procesos digestivos se han desarrollado metodologías que han permitido conocer las variaciones en la tasa de pasaje o tiempo de retención en el rumen, entre los cuales se tiene la determinación directa de la tasa de pasaje usada para estudiar factores que afectan el consumo, dinámica de digestión y la forma física del forraje (Herrera, 2013). La degradabilidad se asocia con la determinación indirecta con marcadores, mediante marcadores solubles en agua o que se adhieran a las partículas del alimento con lo que se realiza la estimación de las tasas de pasaje de la fase líquida o sólida en el rumen.

La degradabilidad se determina en la técnica *in situ*, permitiendo obtener de manera simultánea la muestra que es digerida y la tasa a la cual la digestión se realiza, y es utilizada cuando se desea saber el efecto de las condiciones y cambios en el ambiente ruminal en la tasa y digestión de los alimentos (Ruiz y Ruiz, 1990).

Por otro lado, se han propuesto modelos para describir la degradación acumulativa de las diferentes fracciones que componen un alimento en función del tiempo de fermentación ruminal. Uno de los más usados es el modelo propuesto por Orskov y McDonald (1979) para el caso de la degradación acumulativa de proteína cruda (PC). Este método se basa en la técnica de bolsa ruminal que ha sido utilizada durante muchos años para estudiar la degradación de los forrajes. El proceso se describe mediante la siguiente ecuación,  $y=a+b*[1-\exp(-c*t)]$ , donde  $y$  es la cantidad de alimento degradado en el tiempo;  $a$ , es la degradabilidad inicial que corresponde al intercepto de la ecuación que describe la degradación acumulativa de las diferentes fracciones componentes de un alimento en función del tiempo;  $b$ , degradación potencial y se define como la degradación que sufrirá un alimento en el ecosistema ruminal;  $c$ , tasa de degradación de un alimento, se refiere a la cantidad de sustrato que puede ser degradada por unidad de tiempo; y  $t$ , tiempo de incubación (Orskov y McDonald, 1979).

#### **4.11. Producción de ácidos grasos volátiles (AGV)**

Los ácidos grasos volátiles son compuestos de cadena carbonada corta, que se producen durante la degradación fermentativa de los alimentos en el rumen y que pueden ser convertidos en glucosa, ácidos aminados o ácidos grasos por las bacterias ruminales o por las células del animal. Generalmente se consideran como ácidos grasos volátiles el ácido fórmico, el acético, propiónico, butírico, isobutírico, 2-metil butírico, valérico, isovalérico, caproico y caprílico (Zavaleta, 2014). Los ácidos acético, propiónico y butírico son los que se producen en mayor cantidad durante la fermentación de los alimentos en el rumen; los que aparecen en menor cantidad son el caproico y el caprílico.

Las reacciones más importantes que se dan en la fermentación de carbohidratos fueron resumidas en 1966 y 1969 por Hungate y Wolin respectivamente, de las que se puede decir que, la cantidad de gas producido depende de la cantidad de hexosas fermentadas y la producción molar de los diferentes AGV producidos. Cambios en el patrón de fermentación que incrementan la proporción de ácido butírico y acético, y disminuya la proporción de propiónico, pueden resultar en un incremento en el volumen de gas. Contrariamente, cambios en la estequiometría de las reacciones que aumenten la proporción de propiónico a expensas del butírico y acético, resultarían en menos producción de gas a partir de la fermentación. Por lo que la proporción molar de AGV debe ser tomada en cuenta cuando se realizan comparaciones entre perfiles de producción de gas provenientes de diferentes sustratos (Theodorou *et al.*, 1998).

Una de las limitaciones de la técnica de producción de gas es que el cambio del perfil de AGV puede causar alteraciones en la relación entre la desaparición de sustrato y la producción de gas, debido a que la producción de CO<sub>2</sub> durante la fermentación de un sustrato proviene de dos fuentes: directo de las rutas metabólicas como la descarboxilación oxidativa del piruvato y de las reacciones de los productos finales de la fermentación (AGV) con el bicarbonato del buffer (producción de gas indirecta) (Beuvink y Spoeltra, 1992). La complejidad de la estequiometría de las diferentes reacciones químicas, ocurren durante la fermentación, hacen que se requieran mayor investigación en este punto, lo que dificulta la interpretación en cuanto al aporte de nutrientes.

## 5. Literatura citada

- Aiple, K. P., H. Steingass and, W. Drochner. 1996. Prediction of net energy content of raw materials and compound feeds for ruminants by different laboratory methods. *Arch. Anim. Nutr.* 23 pp. 1508 – 1513.
- Andersson, A., C. Nälsen, S. Tengblad and B. Vassby. 2002. Fatty acid of skeletal muscle reflects dietary fat composition in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 76: 1222 – 1229.
- Arce, P. C., F. Arbaiza, C. Carcelén y A. Lucas. 2003. Estudio comparativo de la digestibilidad de forrajes mediante dos métodos de laboratorio. *Rev. Inv. Vet Perú.* 14: 7 - 12.
- Astorg, P., N. Arnault, S. Czernichow, N. Noisette, P. Galan, and, S. Hercberg. 2004. Dietary intakes and food sources of n-6 and n-3 PUFA in French adult men and women. *Lipids.* 39: 527 – 535.
- Arousseau, B., Bauchart, D., Calichon, E., Micol, D., and Priolo, A. 2004. Effect of grass or concentrate feeding systems and rate of growth on triglyceride and phospholipid and their fatty acids in the *M. longissimus thoracis* of lambs. *Meat Science.* 66: 531–541.
- Bauman, D. E., J. W. Perfield II, M. J. de Veth, and A. L. Lock. 2003a. New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. *Proc. Cornell Nutr. Conf.* pp. 175 – 189.

- Bauman, D.E., B.A. Corl and D.G. Peterson, 2003b. The biology of conjugated linoleic acid in ruminants. *In* J. Sebedio, W.W. Christie and R. Adolf (ed) *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Vol. 2, pp: 146-173. AOCS Press, Champaign, IL.
- Beam, T. M., T. C. Jenkins, P. J. Moate, R. A. Kohn, and D. L. Palmquist. 2000. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. *J. Dairy Sci.* 83: 2564 – 2573.
- Beuvink, J. M. W., S. F. Spoeltra, and R. J. Hogendorp. 1992. An automated method measuring time-course of gas production of feedstuffs incubated with buffered rumen fluid. *Netherlands Journal of Agricultural Science.* 40: 401 – 407.
- Borba, A. E., P. M. Goncalves, C. F. Vouzela, O. A. Rego, and A. F. Borba. 2000. Effect of donor feeding in the use alternative sources of inoculum in the prediction of digestibility by gas production method. *Revista portuguesa de Zootecnia.* 1 pp. 43 – 50.
- Bruni, M. A. y Chilibróste, P. 2001. Simulación de la digestión ruminal por el método de producción de gas. *Archivos latinoamericanos de producción animal.* 9: 43 – 51.
- Byers, F. M. 1982. Nutritional factors affecting growth of muscle and adipose tissue in ruminants. *Fed. Proc.* 41: 2562.
- Byers, F. M., and G. T. Schelling. 2006. Los lípidos en la nutrición de los rumiantes. *In: El rumiante fisiología y digestiva y nutrición.* Church, C. D. (Ed). Ed. Acribia, S. A. Zaragoza, España. Pp. 339 – 356.

- Carrillo, D. S. 2005. Mitos y realidades sobre el consumo de huevo. *In: Memoria del XXVI Aniversario del Programa de Ganadería*. 9 de septiembre. Estado de México, México. Pp 21-38.
- Carrillo, D., J. Carranco, D. Castillo, G. Castillo, R. Perez, and G. Avila. 1999. Effect on cholesterol and  $\Omega 3$  and  $\Omega 6$  fatty acids in egg whit the inclusion of red crab meal *Pleuroncodes planipes* in laying hens rations. *Poultry Sci.* 78:80.
- Carro, M.D., S. Lopez, J. S. Gonzalez and F. J. Ovejero. 1994. Comparison of laboratory method for predicting digestibility of hay in sheep. *Small Rumin. Res.* 14: 9 – 17.
- Chalupa, W., P. Moate, and R. Boston. 2003. A model to describe ruminal metabolism and intestinal digestion of fatty acids. *Proceedings of the 50th Maryland Conference for Feed Manufacturers*.
- Chavarro, J. E., M. J. Stampfer, H. Li, H. Campos, T. Kurth, and J. Ma. 2007. A prospective study of polyunsaturated fatty acid levels *in: blood and prostate cancer risk*. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 16: 1364 – 1370.
- Church, C. D. 2006. *El rumiante, fisiología digestiva y nutrición*. Ed. Acribia, S. A. Zaragoza, España. Pp. 339 – 356.
- Cone, J. W., A. H. Van Gelder, and G. J. W. Visscher. 1996. Influence of rumen fluid and substrate concentration of fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus. *Anim. Feed Sci. Technol.* 61: 113 – 128.

- Dan, L., Q. Jia Wang, and P. B. Deng. 2012. Ruminal microbe of biohydrogenation of trans-vaccenic acid to stearic acid in vitro. *BMC Research Notes*. 5:97
- Daniel, J. A., B. K. Whitlock, J. A. Baker, B. Steele, C. D. Morrison, D. H. Keisler, and J. L. Sartin. 2002. Effect of body fat mass and nutritional status on 24-hour leptin profiles in ewes. *J. Anim. Sci.* 80:1083 –1089.
- Davis, C. L. 1990. *Fats in Animal Feeds*. Barnaby Inc., Sycamore, IL.
- Davis, D. R., M. K. Theodorou, J. Baughan, A. E. Brooks, and J. R. Newbold. 1995. An automated pressure evaluation system (APES) for determining the fermentation characteristics of ruminant feeds. *Annal. Zootech.* 44 (suppl. 1), 36.
- Demeyer, D., and M. Doreau. 1999. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proc. Nutr. Soc.* 58: 593 – 607.
- Donovan, D. C., Schingoethe D. J., Baer R. J., Ryali J., Hippen A. R, and Franklin S. T. 2000. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fattyacids in milk fat from lactating dairy cows. *J. of Dairy Sci.* 83: 2620 – 2628.
- Enjalbert, F., M. C. Nicot, C. Bayourthe, M. Vernay, and R. Moncoulon. 1997. Effects of dietary calcium soaps of unsaturated fatty acids on digestion, milk composition and physical properties of butter. *J. Dairy Res.* 64:181 – 195.
- FAO. 2010. *Grasas y ácidos grasos en la nutrición humana*. Fundación Iberoamericana de Nutrición (FINUT). Granada, España, 2012. 175 p.

- Ferlay, A., J. Chabrot, Y. Elmeddah, and M. Doreau. 1993. Ruminant lipid balance and intestinal digestion by dairy-cows fed calcium salts of rapeseed oil fatty-acids or rapeseed oil. *J. Anim. Sci.* 71: 2237 – 2245.
- Franklin, S. T., K. R. Martin, R. J. Baer, D. J. Schingoethe, and A. R. Hippen. 1999. Dietary marine algae (*Schizochytrium* sp.) increases concentrations of conjugated linoleic, docosahexaenoic and transvaccenic acids in milk of dairy cows. *J. Nutr.* 129: 2048–2054.
- French, P., Stanton, C., Lawless, F., O. Riordan, E. G., Monahan, F. J., Caffrey, P. J. 2000. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. *J. Anim. Sci.* 78: 2849 – 2855.
- Geary, T. W., E. L. McFadin, M. D. MacNeil, E. E. Grings, R. E. Short, R. N. Funston, and D. H. Keisler. 2003. Leptin as a predictor of carcass composition in beef cattle. 81: 1 – 8.
- Gerber, M. 2009. Background review paper on total fat, fatty acid intake and cancers. In Burlingame, B., Nishida, C., Uauy, R. & Weisell, R., eds. *Fats and fatty acids in human nutrition. Joint FAO/WHO Expert Consultation*, November 10-14, 2008, Geneva, Switzerland. *Ann. Nutr. Metab.* 55: 140 – 161.
- Getachew, G., G. M. Grovotto, M. Fondevila, U. Krishnamoorthy, B. Singh, M. Spanghero, H. Steingass, P. H. Robinson, and M. M. Kailas. 2002. Laboratory variation of 24 h

- in vitro* gas production and estimated metabolizable energy of ruminant feeds. Anim. Feed Sci. Technol. 102: 169 – 180.
- Giraldo, C., E. Valderrama, L. Montoya, y I. Armbrecht. 2006. *Efecto de Tithonia diversifolia* (Asteraceae) *sobre herbivoría de Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae). In: Resúmenes IV Congreso Latinoamericano de Agroforestería para la producción animal sostenible y III Simposio sobre sistemas silvopastoriles para la producción ganadera sostenible. EEPF “Indio Hatuey”. Matanzas, Cuba. Enero, 113 pp.
- Grant, R. J. and D. R. Mertens. 1992. Impact *in vitro* fermentation techniques upon kinetics of fiber digestion. J. Dairy Sci. 75: 1263 – 1272.
- 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. I., pp: 180 – 200. AOCS Press, Champaign, IL.
- Griinari, J.M., D.A. Dwyer, M.A. McGuire, D.E. Bauman, D.L. Palmquist and K.V.V. Nurmela. 1998. Transoctadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. J. Dairy. Sci. 81: 1251 – 1261.
- 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. London.

- Hidayat, C., K. Hillman, C. J. Newbold, and C. S. Stewart. 1993. The contributions of bacteria and protozoa to ruminal forage fermentation *in vitro*, as determined by microbial gas production. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 42: 193 – 208.
- Hu, J., L. Mery, M. Desmeules, and M. Macleod. 2007. Diet and vitamin or mineral supplementation and risk of rectal cancer in Canada. *Acta Oncol.* 46: 342 – 354.
- Hungate, R. E. 1966. *The rumen and its Microbes*. Academic Press, New York. 533 pp.
- Iritani, N., T. Sugimoto, and H. Fukuda. 2000. Gene expression of leptin, insulin receptors and lipogenic enzymes are coordinately regulated by insulin and dietary fat in rats. *J. Nutr.* 130: 1183 – 1188.
- Karma, D. N. and F. Zadrazil. 1986. Influence of gaseous phase, light and substrate pretreatment on fruit body formation, lignin degradation and *in vitro* digestibility of wheat straw fermented with *Pleurotus sp.* *Agric. Wastes.* 18: 1 – 17.
- Karunananda, k., G. A. Varga, D. E. Akin, L. L. Rigsby and D. J. Royse. 1995. Botanical fractions of rice straw colonized by white – rot fungi: changes in chemical composition and structure. *Anim. Feed Sci. Technol.* 55: 179 – 199.
- Kemp, P., and D. J. Lander. 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.

- Kepler, C.R., W.P. Tucker and S.B. Tove. 1966. Martin, G.S., D.K. Lunt, K.G. Britain and S.B. Smith, 1999. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. J. Biol. Chem. 241: 1350 – 1354.
- Khanal, R.C., T.R. Dhiman, D.J. McMahon and R.L. Boman. 2002. Influence of diet on conjugated linoleic acid content of milk, cheese and blood serum. J. Dairy Sci., 85: (Suppl. 1): 142.
- Lahoz, C., y J. M. Mostaza. 2007. La aterosclerosis como enfermedad sistémica. Revista Española de Cardiología. 60: 184 – 195.
- Laredo, M. A. and D. J. Minson. 1973. The voluntary intake, digestibility and retention time by sheep of leaf and stem fraction of five grasses. Australian J. of Agric. Research. 24: 875 – 888.
- Laurence, B., J. Mourirot, J. Rouel, F. Glasser, P. Capitan, E. Pujos-Guillot, C. Jean-Michel, and Y. Chilliard. 2010. Effects of fish oil and starch added to a diet containing sunflower-seed oil on dairy goat performance, milk fatty acid composition and in vivo delta9-desaturation of [18C] vaccenic acid. Br. J. Nutr. 104: 346 – 354.
- Loor, J. J., K. Ueda, A. Ferlay, Y. Chilliard, and M. Doreau. 2004. Biohydrogenation, duodenal flow, and intestinal digestibility of trans fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage: concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. J. Dairy Sci. 87: 2472 – 85.

- López, S., M. D. Carro, J. S. Gonzáles, and F. J. Ovejero. 1998. Comparison of *in vitro* and *in situ* methods to estimate the extent and rate of degradation of hays in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 73: 99 – 113.
- Margarida, R. G., L.C. Maia, C. Chaudhary, F. Lauren, and R. J. Wallace. 2007. Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Antonie van Leeuwenhoek.* 9: 303 –314.
- Martin, S.A. and T.C. Jenkins. 2002. Factors affecting conjugated linoleic acid and *trans*-C fatty acid 18:1 production by mixed ruminal bacteria. *J. Anim. Sci.* 3347 – 3352.
- Martínez, M. A. L., M. H. Pérez, L. A. Pérez, C. G. Gómez, D. P. Carrión. 2010. Metabolismo de los lípidos en los rumiantes. *Revista electrónica de Veterinaria.* 11: 1695 – 7504.
- Mauricio, R. M, F. L. Mould, M. S. Dhanoa, E. Owen, K. S. Channa, and M. K. Theodorou. 1999. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 79: 321 – 330.
- McBee, R. H. 1953. Manometric method for evaluation of microbial activity in the rumen with application to utilization of cellulose and hemicelluloses. *Applied microbiology.* 1: 106 – 110.
- Medina, E. A., Horn W. F., Keim N. L., Havel P. J., Benito P., Kelley D. S., Nelson G. J., and Erickson K. L. 2000. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on circulating leptin concentrations and appetite. *Lipids.* 35: 783 – 800.

- Medina, L. J. B., C. H. J. Salinas, D. E. C. Lerma, D. R. Martínez, P. R. Yado. 1995. Digestibilidad *in vitro* de baya madura de calabaza (*Cucurbita maxima* con soca de sorgo, urea y melaza en raciones integrales para ovinos. Memoria VII congreso nacional de producción ovina AMTEO. Chapingo, México. pp. 77 – 81.
- Menke, K. H., and H. Steingass. 1998. Estimation of energetic feed value from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Anim. Res. Develop. 28: 7 – 55.
- Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz, and Schneider W. 1979. The estimation of digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. J. Agric. Sci. 92: 217 – 222.
- Muro, R. A. 2007. Efecto de la fuente de fibra detergente neutra, fibra detergente ácido y proteína sobre la cinética de degradación ruminal *in vitro*. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias. Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Zootecnia. p. 85 – 89.
- Nguyen, P., V. Leray, M. Diez, S. Serisier, J. Le Bloc'h, B. Siliart, H. Dumon. 2008. Liver lipid metabolism. J. Physiol. Anim. Nutr. 92: 272 – 283.
- Noble, R.C., J.H. Moore and C.G. Harfoot. 1974. Observations on the pattern of esterified and unesterified linoleic acid in the rumen. Br. J. Nutr. 31: 99 – 108.
- NRC. 2006. Nutrient requirements of sheep. National Academy Press. Sixth Revised Edition. Washington, D. C. USA.

- O'Donell, C. J., y R. Elosua. 2008. Factores de riesgo cardiovascular. Perspectivas derivadas del Framingham Heart Study. *Revista Española de Cardiología*. 61: 299 – 310.
- Or-Rashid, M. M., J. K. G. Kramer, M. A. Wood, and B. W. McBride. 2007. Supplemental algal alters the *ruminal trans-18:1* fatty acid and conjugated linoleic acid composition in cattle. *J. Anim. Sci.* 86: 187 – 196.
- Orskov, E. R. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. of Agric. Sci.* 92: 499 – 504.
- Palmquist, D. L., and T. C. Jenkins. 1980. Fat in lactation rations for dairy: A review. *J. Dairy Sci.* 63: 1 – 14.
- Pell, A. N. and P. Schofield. 1993. Computerized monitoring of gas to measure forage digestion *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 76: 1063 – 1073.
- Perfield, J.W., A.L. Lock, A.M. Pfeiffer, and D.E. Bauman. 2004. Effects of amide-protected and lipid-encapsulated conjugated linoleic acid (CLA) supplements on milk fat synthesis. *J. Dairy Sci.* 87: 3010 – 3016.
- Posada, S. L., y R. R. Noguera. 2005. “in vitro gas production technique: a tool for evaluation of ruminant feeds”. *Livestock research for rural development*. 17 (4). [www.scopus.com](http://www.scopus.com).

Prentice, R.L., Caan, B., Chlebowski, R.T., Patterson, R., Kuller, L.H., Ockene, J.K., Margolis, K.L., Limacher, M.C., Manson, J.E., Parker, L.M., Paskett, E., Phillips, L., Robbins, J., Rossouw, J.E., Sarto, G.E., Shikany, J.M., Stefanick, M.L., Thomson, C.A., Van Horn, L., Vitolins, M.Z., Wactawski-Wende, J., Wallace, R.B., Wassertheil-Smoller, S., Whitlock, E., Yano, K., Adams-Campbell, L., Anderson, G.L., Assaf, A.R., Beresford, S.A., Black, H.R., Brunner, R.L., Brzyski, R.G., Ford, L., Gass, M., Hays, J., Heber, D., Heiss, G., Hendrix, S.L., Hsia, J., Hubbell, F.A., Jackson, R.D., Johnson, K.C., Kotchen, J.M., LaCroix, A.Z., Lane, D.S., Langer, R.D., Lasser, N.L. & Henderson, M.M. 2006. Low-fat dietary pattern and risk of invasive breast cancer: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. *JAMA*. 295: 629 – 642.

Rahman, S. M., Wang Y., Yotsumoto H., Cha J., Han S., Inoue S., and Yanagita T. 2001. Effects of conjugated linoleic acid on serum leptin concentration, body-fat accumulation, and beta-oxidation of fatty acid in OLETF rats. *Nutrition*. 17: 385 – 90.

Reiser, R. 1951. Hydrogenation of polyunsaturated fatty acids by the ruminant. *Fed. Proc.* 10: 236.

Riel, R. R. 1963. Physico-chemical characteristics of Canadian milk fat. Unsaturated fatty acids. *J. Dairy Sci.* 46: 102 – 106.

Ruiz, M y A. Ruiz. 1990. Nutrición de rumiantes; guía metodológica de investigación primera edición. San José. CR: IICA. 105 – 139 p.

- Rymer C. 2000. The measurement of forage digestibility *In vivo*. *In: forage evaluation in ruminant*. CAB international. 6: 113 – 134.
- Sackmann, J. R., S. K. Duckett, M. H. Gillis, C. E. Realini, A. H. Parks, and R. B. Egelston. 2003. Effects of forage and sunflower oil levels on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *J. Anim. Sci.* 2003. 81: 3174 – 3181.
- Schofield, P., 2000. Gas production methods. *In: farm animal metabolism and nutrition*. Wallingford (UK). CAB international. 450 p.
- Shorland, F.B., R.O. Weenink and A.T. Johns. 1955. Effect of the rumen on dietary fat. *Nature*. 175: 1129 – 1130.
- SSA. 2001. Programa de acción: Enfermedades cardiovasculares e hipertensión arterial. Secretaría de Salud, México.
- SSA. 2010. Bases técnicas del acuerdo nacional para la salud alimentaria. Estrategia contra el sobrepeso y la obesidad. Secretaría de Salud. México.
- Steele, W. and J. H. Moore. 1968. The effects of a series of saturated fatty acids in the diet on milk fat secretion. *J. Dairy Res.* 35: 361.
- Steele, W. 1983. Intestinal absorption of fatty acids, and blood lipid composition in sheep. *J. Dairy Sci.* 66: 520.
- Theodoratou, E., Campbell, H., Tenesa, A., McNeill, G., Cetnarskyj, R., Barnettson, R.A., Porteous, M.E., Dunlop, M.G. & Farrington, S.M. 2008. Modification of the

associations between lifestyle, dietary factors and colorectal cancer risk by APC variants. *Carcinogenesis* on line, Mar 28.

Theodoratou, E., G. McNeill, R. Cetnarskyj, S.M. Farrington, A. Tenesa, R. Barnetson, M. Porteous, M. Dunlop, and H. Campbell. 2007. Dietary fatty acids and colorectal cancer: a case-control study. *Am. J. Epidemiol.* 166: 181 – 195.

Theodorou, M. K., R. S. Lowman, Z. S. Davies, D. Cuddeford, and E. Owen. 1998. Principles of techniques that rely on gas measurement in ruminant nutrition. *In: E. Owen, A. T. Adesogan, C. Rymer, J. A. Huntington, and T. L. J. Lawrence (Eds.). In vitro techniques for measuring nutrient supply to ruminant.* BSAS Occ. No. 22. P. 55.

Thiébaud, A.C.M., Kipnis, V., Chang, S-C., Subar, A.F., Thompson, F.E., Rosenberg, P.S., Hollenbeck, A.R., Leitzmann, M. & Schatzkin, A. 2007. Dietary fat and postmenopausal invasive breast cancer in the National Institutes of Health–AARP Diet and Health Study Cohort. *J. Natl. Cancer Inst.* 99: 451 – 462.

Thompson, A. B. R., and J. M. Dietschy. 1981. *In: Physiology of the gastrointestinal tract.* p 1147. L. R. Johnson, ed. Raven Press, New York.

Troegeler-Meynadir, A., M.C. Nicot, C. Bayourthe, R. Moncoulon and F. Enjalbert. 2003. Effects of pH and concentrations of linoleic acids on extent and intermediates of ruminal biohydrogenation *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 86: 4054-4063.

- Tzonou, A., C. C. Hsieh, A. Polychronopoulou, G. Kaprinis, N. Toupadaki, and, N. Trichopoulou. 1993. Diet and ovarian-cancer – a case-control study in Greece. *Int. J. Cancer*. 55: 411 – 414.
- Vallejo, H. 2013. Modificación de variables de la degradación y fermentación *in vitro* e *in situ* de una dieta con fitasa exógena para borregos en crecimiento. Tesis. Colegio de Postgraduados. 39 pp.
- Van-Lier E., M. Regueiro. 2008. Digestión en retículo-rumen. Departamento de producción animal y pasturas, curso de anatomía y fisiología animal. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. 28 pp.
- Vasta, V., Makkar, H.P.S., Mele, M., Priolo, A. 2009. Ruminal biohydrogenation as affected by tannins *in vitro*. *Brit. J. Nutr.* 102. 82-92.
- Waghorn, G. C., and K. J. Stafford. 1993. Gas production and nitrogen digestion by rumen microbes from deer and sheep. *New Zeland J. Agric. Res.* 4: 493 – 497.
- Ward, P.F.V., T.W. Scott and R.M.C. Dawson. 1964. The hydrogenation of unsaturated fatty acids in the ovine digestive tract. *Biochem. J.* 92: 60 – 68.
- Wilde, P.F. and R.M.C. Dawson. 1966. The biohydrogenation of  $\alpha$ -linolenic acid and oleic acid by rumen micro-organisms. *Biochem. J.* 98: 469 – 475.
- Williams, B. A. 2000. Cumulative gas production techniques for forage evaluation. In: Forage evaluation in ruminant nutrition (Eds. Givens, D. I., Owen E., Omed H.M. y Axford R.F.E.) Wallingford. UK. CAB. International. p 475.

Wolin, M. J. 1969. A theoretical rumen fermentation balance. *J. Dairy Sci.* 43: 1452 – 1459.

World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. 2007. Food nutrition, Physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. Washington DC: AICR.

Yañez-Ruiz, D. R., Scollan N. D., Merry R. J., and Newbold C. J. 2006. Contribution of rumen protozoa to duodenal flow of nitrogen, conjugated linoleic acid and vaccenic acid in steers fed silages differing in their water-soluble carbohydrate content. *Brit. J. Nutr.* 96: 861 – 869.

Zavaleta, D. L. 2014. Los ácidos grasos volátiles, fuente de energía en los rumiantes. In: ciencia veterinaria. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. 240 pp. <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol1/CVv1c09.pdf>.

## CAPITULO I

### ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO PROTEGIDO EN LA DIETA DE BORREGOS PELIBUEY: EFECTO EN CARACTERISTICAS PRODUCTIVAS

#### 1.1 RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del ácido linoleico conjugado protegido (CLAp) en la respuesta productiva de borregos en crecimiento. Se emplearon 24 borregos de la raza Pelibuey, distribuidos homogéneamente en 4 grupos de 6 animales cada uno, y alojados en jaulas metabólicas individuales, en un diseño completamente al azar. Cada grupo fue asignado aleatoriamente a uno de cuatro tratamientos: T1, dieta base sin CLAp; T2, dieta base con 25g de CLAp; T3, dieta base con 50 g de CLAp; y T4, dieta base con 75 g de CLAp. No hubo diferencias entre tratamientos ( $P>0.05$ ) en ninguna de las variables evaluadas, cuyos promedios para consumo de materia seca, ganancia diaria de peso, conversión alimenticia, eficiencia alimenticia, espesor de grasa dorsal, rendimiento de canal caliente y fría, son 1,115.55 g MS/d, 241.76 g/d, 4.68, 0.22, 3.2 mm, 54.08 y 53. 39 respectivamente. En las condiciones en que se llevó a cabo el experimento, adicionar CLAp en la dieta de borregos de la raza Pelibuey no ofrece beneficios en comportamiento productivo, pero sí una ligera disminución del espesor de grasa dorsal y conversión alimenticia con el nivel más alto de CLA protegido.

**Palabras clave:** Ácido linoleico conjugado, Pelibuey, comportamiento productivo.

#### 1.2 SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the effect of rumen protected conjugated linoleic acid (CLAp) added to Pelibuey sheep diet on animal performance. Twenty four Pelibuey sheep were used, distributed into four groups of six animals each. They were housed in individual metabolic cages, under a completely randomized design. Each group was allocated to one of four treatments: T1, basal diet without CLAp; T2, basal diet with 25 g CLAp; T3, basal diet with 50 g CLAp; and T4, basal diet with 75 g CLAp. There were no differences among treatments ( $P> 0.05$ ), with average results for dry matter intake, daily weight gain, feed conversion, feed efficiency, backfat thickness, hot and cold carcass, of 1124.29 g MS/d,

241.76 g/d, 4.68, 0.22, 3.2 mm, 54.08 and 53.39, respectively. Under the conditions this experiment was carried out, it is concluded that supplementing different level of protected CLA to Pelibuey lambs, does not offer any benefit on animal performance, but a slight decrease on backfat thickness and feed conversion under the highest level of protected CLA.

**Keywords:** Conjugated linoleic acid, Pelibuey, animal performance.

### 1.3 INTRODUCCIÓN

En la actualidad uno de los factores más influyentes en el consumidor para decidir la compra de carne es su contenido de grasa, especialmente por su relación con la salud humana. La FAO (2010) señala que el consumo de grasas, especialmente las saturadas, se asocia fuertemente con las enfermedades cardiovasculares y de cierta forma con algunos tipos de cáncer. Ante este panorama, recientemente se ha puesto particular énfasis al ácido linoleico conjugado (CLA), por su potencial efecto lipolítico (Azain *et al.*, 2000; Lin *et al.*, 2001) y anticancerígeno (Rainer *et al.*, 2004). A través de la dieta y alimentación de los animales, puede manipularse el perfil de ácidos grasos, incrementando el contenido de ácidos grasos insaturados en la carne (Wood *et al.*, 2008). Algunos autores, demostraron que adicionando 6% de aceite de girasol (Boles *et al.*, 2005), maíz (Gillis *et al.*, 2007) a borregos, la proporción de AGI incrementa de 49.93% a 62.38%, además del incremento significativo de los isómeros de CLA, pero existe el inconveniente del proceso de biohidrogenación en el rumen. Esto ha llevado a desarrollar técnicas de protección de diversos compuestos, como es la encapsulación del CLA. El CLA protegido (CLAp), usado básicamente en vacas lactantes (Piperova *et al.*, 2004), genera mayor contenido de CLA en la leche, con el inconveniente de disminuir su contenido de grasa, aspecto no deseable para la industria lechera, pero sería deseable para la industria cárnica, ya que se produciría carne con menor

contenido de grasa, además, enriquecido con CLA. Al respecto hay poca o nula información disponible. Gillis *et al.* (2007) al comparar CLA protegido con aceite de maíz, no encontraron modificación de los parámetros productivos, salvo en los bovinos suplementados con aceite de maíz, que tuvieron mejor marmoleo en la carne. Otras fuentes indican que incluir CLA protegido con sales de calcio (1 o 2.5 %) reduce el consumo de alimento y la ganancia de peso, sin modificar la grasa de cobertura en novillos (Gassman *et al.* 2001). Estos resultados no son constantes, ni concluyentes, por lo que se requiere llevar a cabo más investigación para evaluar el efecto del CLA protegido en el desempeño productivo de borregos, además de conocer las interacciones entre el CLA de la dieta con los demás componentes nutricionales durante el metabolismo ruminal de los alimentos, ya que se conoce el efecto negativo de niveles altos de PUFA's sobre la degradación de las fibras y la población ruminal (Hristov *et al.*, 2005).

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta productiva de borregos de la raza Pelibuey en crecimiento alimentados con diferentes niveles de CLA protegido en su dieta.

#### **1.4 MATERIALES Y MÉTODOS**

El experimento se realizó en la Unidad metabólica de la granja experimental del Programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados, ubicado en el km 36.5 carretera México – Texcoco, en Montecillo Texcoco, estado de México (19° 20' LN, 98° 53' LO, 2250 msnm), donde el clima corresponde al más seco de los climas templados, y la precipitación media anual es de 636.5 mm, con régimen de lluvias en verano y temperatura media anual de 15.2 °C (García, 2004). El experimento tuvo una duración de 60 días, con un periodo de

adaptación de 15 días. Se utilizaron 24 borregos Pelibuey, enteros, con peso vivo inicial de  $22.3 \pm 5$  kg, y 70 días de edad, en promedio. Los animales fueron distribuidos homogéneamente en 4 grupos de 6 animales cada uno, y cada grupo fue asignado aleatoriamente a cada uno de cuatro tratamientos evaluados: T1, dieta base sin CLAp; T2, dieta base con 25g de CLAp; T3, dieta base con 50 g de CLAp; y T4, dieta base con 75 g de CLAp. Los animales estuvieron alojados en jaulas metabólicas individuales. La dieta base (Cuadro 1) fue formulada de acuerdo a las tablas de requerimientos del NRC (2006). El CLAp se proporcionó dos veces al día junto con el alimento, la mitad en la mañana (8:00 horas) y la otra mitad restante en la tarde (16:00 horas). El CLA venía en microcapsulas, que aportaron 10 g de *cis-9,trans-11* y 10 g de *trans-10,cis-12* CLA por cada 100 de CLAp (Lutrell Pure®, BASF, Alemania). El rechazo de alimento fue registrado todos los días de manera individual.

Las variables medidas fueron consumo de materia seca (CMS), ganancia diaria de peso (GDP), conversión alimenticia (CA), eficiencia alimenticia (EA), grasa dorsal (GD), y rendimiento de canal caliente (RCC) y fría (RCF). Los borregos fueron pesados semanalmente, en la mañana, antes de ofrecer el primer alimento. La GDP se calculó como la diferencia entre el peso inicial y el peso final entre el número de días transcurridos. La CA se calculó dividiendo el consumo de materia seca entre la ganancia de peso y la EA dividiendo la ganancia diaria de peso entre el consumo de materia seca.

La grasa dorsal (GD) se midió al inicio, mediados y final del experimento, utilizando un ultrasonido Sonovet 600® con un transductor lineal de 7.5 Mhz. El rendimiento de canal caliente se obtuvo dividiendo el peso de la canal caliente entre el peso de matanza por 100 y

para el caso del rendimiento de canal fría dividiendo el peso de la canal fría entre el peso de matanza por 100. Se usó un diseño completamente al azar, y los datos fueron analizados usando el PROC GLM, con la prueba de Tukey para la comparación de medias (SAS, 2009). El modelo experimental fue  $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$ , y cada animal fue una unidad experimental.

**Cuadro 1. Ingredientes y composición química de la dieta usados en la alimentación de borregos Pelibuey.**

<b>Ingrediente</b>	<b>(%)</b>
Maíz (grano)	45.50
Sorgo (grano)	23.00
Pasta de soya	12.00
Rastrojo de maíz	14.21
Melaza	2.00
Prem. Vit+Min*	2.00
Urea	1.00
Sal común	0.31
Composición química	(%)
Materia seca	92.00
Proteína	15.50
FDN	21.11
FDA	8.93
Cenizas	5.70

\*Vitasal ovino plus: 24, 3, 2, 8,12, 0.50, 0.50 y 0.50% de Ca, P, Mg, Na, Cl, K y S y antioxidante; 2000, 5.00 4000, 2000, 5000, 100, 30 y 60 ppm de lasolacida, Cr, Mn, Fe, Zn, I, Se, y Co; 500 000, 150 000, 1000 UI de vitamina A, vitamina D y vitamina E, respectivamente. FDN, fibra detergente neutra; FDA, fibra detergente ácida

## 1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **Consumo de materia seca, ganancia de peso, conversión y eficiencia alimenticia.**

En el Cuadro 2 se presentan los resultados de consumo de materia seca, ganancia diaria de peso, conversión alimenticia y eficiencia alimenticia. Ninguna de ellas fue significativamente diferente entre tratamientos ( $P>0.05$ ), con valores promedio de 1 124.29 g MS/d, 241.76 g/d, 4.68, 0.22, respectivamente. Estos resultados son similares a los obtenidos por otros autores, al adicionar diferentes niveles de CLAp en corderos (Wynn *et al.*, 2006), y toretes en crecimiento (Gillis *et al.*, 2007; Schlegel *et al.*, 2012), aun suplementando niveles superiores a los usados en nuestro experimento, adicionando hasta 100 y 250 de CLAp g/animal/día en la dieta. Esto sugiere que aún los niveles más elevados de CLA no ejercen efecto en el comportamiento productivo de los animales. Es posible que influya el nivel de protección del CLA en el flujo duodenal del isómero responsable de la reducción de la grasa en leche (trans10, cis12). Schlegel *et al.* (2012) con una protección aproximada del 70% de los isómeros, lograron un flujo máximo al intestino delgado de 3.4 g de trans10, cis12 con 250 g de inclusión de CLA protegido. En este estudio se estima que hubo un flujo máximo diario de 7.5 g del isómero trans10, cis12 al incluir 75g de CLAp en la dieta, toda vez que el flujo a duodeno de isómeros de CLA en la dieta basal, depende de su composición. Se ha demostrado que un aumento en la proporción de concentrado y la administración de suplementos de aceites vegetales incrementa el flujo duodenal de CLA (Piperova *et al.*, 2002; Sackmann *et al.*, 2003; Loor *et al.*, 2004). Sackmann *et al.* (2003), en dietas consistentes en diversas cantidades de forraje, suplementado con aceite de girasol, encontraron que menos del 0.23% del total de ácido linoleico se convierte en CLA en el

rumen de novillos, independientemente del contenido de forraje o aceite, teniendo un flujo duodenal de trans10, cis12 de 0.07 g/d, con 36% de forraje y 5.5 kg/d de CMS. Similares bajos flujos duodenales de este isómero de CLA en la dieta fueron encontrados en otros estudios en vacas lecheras y becerros (Duckett *et al.*, 2002; Piperova *et al.*, 2002; Loor *et al.*, 2004). Esto sugiere que, con la máxima protección (70%) de los isómeros de la biohidrogenación ruminal, los niveles de CLA que llegan al intestino delgado para absorberse no fueron suficientes para modificar las variables productivas de los animales.

Contrariamente, en los no rumiantes, los efectos son diferentes, según reportaron Wiegand *et al.* (2001) que al adicionar CLA en la dieta de cerdos lograron incrementar la eficiencia alimenticia en comparación con el testigo, sin que influyera la raza del animal. Estos autores atribuyen estos cambios a la capacidad de CLA para regular el metabolismo de la energía y la partición de nutrientes, por lo que se hipotetiza que si la grasa corporal se reduce por la suplementación de CLA, entonces se requiere menos energía para mantener el crecimiento de los animales, lo que los vuelve más eficientes, situación que no se presenta en los rumiantes. Al respecto, desde los 90, Park *et al.* (1997) reportaron que adicionando 0.5% de CLA en la dieta de ratones se reduce el 60% de grasa corporal e incrementa 14% la masa corporal. Estos autores, consideran los efectos del CLA sobre los adipocitos (sitio principal de almacenamiento de grasa) y células del músculo esquelético (sitio principal de la oxidación de las grasas), sugiriendo el aumento de la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos en el músculo esquelético y en los depósitos de grasa, pero no en el hígado, al mismo tiempo que se reduce la actividad de la lipoproteína lipasa, por lo que se mejora la lipólisis. En este caso, los efectos del CLA sobre la deposición grasa en los borregos no fue evidenciada como en

los ratones, situación que se le puede atribuir principalmente al metabolismo de los animales, siendo que los ratones al ser una especie más pequeña el efecto del CLA es inmediato.

En becerros en crecimiento, Flórez-Díaz *et al.* (2006) obtuvieron mejoras en la ganancia diaria de peso y eficiencia alimenticia durante los primeros 56 días de ser suplementados con 4% de sales de calcio de CLA en la dieta. De la misma manera, en novillas angus x hereford suplementadas con 2% de sales de calcio de CLA en la dieta, obtuvieron mejores ganancias diarias de peso y mejor eficiencia alimenticia a comparación de una dieta con 4% de aceite de maíz (Gillis *et al.*, 2004). Ambos autores coinciden en atribuir este comportamiento a la edad del animal, ya que los efectos en ganancia diaria de peso y eficiencia alimenticia se observaron únicamente en la primera mitad del periodo de engorda, perdiendo dicha capacidad a finales del periodo de suplementación.

### **Grasa dorsal**

Adicionar diferentes niveles de CLAp a la dieta de borregos Pelibuey no modificó significativamente ( $P>0.05$ ) el espesor de la grasa dorsal. Al respecto, Wynn *et al.* (2006) reportaron resultados similares cuando adicionaron CLAp en la dieta de corderos en crecimiento. Este comportamiento es sorprendente debido a que Lock *et al.* (2006) y Piperova *et al.* (2004), reportaron que al incluir CLAp en la dieta de vacas lecheras, el contenido de grasa disminuye. Esta disminución de grasa se atribuye a que el CLA reduce la actividad de la enzima esteroil-CoA desaturasa además de los niveles de ARNm (Choi *et al.*, 2004; Baumgard *et al.*, 2000) mientras que otros autores (Park *et al.*, 2000; Choi *et al.*, 2001) apoyan la idea de que el CLA disminuye directamente la actividad del esteroil-CoA desaturasa sin modificar la expresión génica. En estudios donde se ha reportado que el CLA inhibe la actividad de esteroil-CoA desaturasa (Park *et al.*, 2000; Smith *et al.*, 2002), los

niveles tisulares de ácido palmitoleico y oleico se reducen, debido a que esta enzima promueve la producción de ácidos grasos monoinsaturados a partir de substratos saturados (actividad asociada a una mayor producción de ácido oleico palmitoleico). Sin embargo, no hay reducción evidente en la conversión de C18:1 trans-11 a cis-9, trans-11 CLA, y la provisión de más trans-10, cis-12 CLA (inhibidor) está vinculada a la provisión de más C18:1 trans-11 (sustrato), contrariamente a otros estudios (Baumgard *et al.*, 2001) en el que el grado de inhibición de la esteroil-CoA desaturasa aumenta con la cantidad de trans-10, cis-12 CLA consumido. En este caso se deduce que la aparente inhibición de la actividad del esteroil-CoA desaturasa por parte del trans-10, cis-12 puede ser responsable de las reducciones en el contenido total de lípidos observados cuando se alimenta con CLA (Ntambi *et al.*, 1999). Sin embargo, esto no sucedió en los animales usados en nuestro experimento. Es posible que dentro del organismo de los animales, el isómero trans-10, cis-12 CLA (inhibidor del esteroil-CoA desaturasa) se metaboliza preferentemente (Ip *et al.*, 2002; Martin *et al.*, 2000; Park *et al.*, 1999) al cis-9, trans-11 CLA, canalizando el trans-10, cis-12 a rutas metabólicas como la beta oxidación provocando un efecto poco perceptible en la reducción del contenido graso en los animales usados en el experimento. Park *et al.* (1999) comprobaron que a pesar de alimentar ratones con cantidades iguales de cis-9, trans-11 y trans-10, cis-12 CLA, este último sólo estaba presente en alrededor de la mitad de la concentración que el cis-9, trans-11 CLA en hígado, grasa y músculo. Además, el trans-10, cis-12 CLA fue movilizado más rápido del músculo esquelético que el cis-9, trans-11 CLA tras el retiro del CLA de la dieta. Efectos similares en la inclusión de isómeros de CLA han sido reportados en cerdos (Tischendorf *et al.*, 2002) y ratas (Alasnier *et al.*, 2002).

**Cuadro 2. Parámetros productivos y espesor de grasa dorsal en dietas de ovinos suplementados con diferentes niveles de CLAp.**

Variable	CLAp				EEM*	P
	0	25	50	75		
CMS, g/d	1 088.68	1 193.98	1 149.48	1 029.41	32.42	0.327
GDP, g/d	217.80	263.26	251.14	234.85	9.03	0.336
CA	5.14	4.60	4.60	4.39	0.13	0.237
EA	0.201	0.219	0.220	0.229	0.005	0.321
GD, mm	3.17	3.33	3.33	3.00	0.022	0.650
RCC, %	55.78	54.65	53.78	55.33	0.370	0.276
RCF, %	54.17	53.20	52.33	53.87	0.377	0.348

CMS, consumo de materia seca; GDP, ganancia diaria de peso; CA, conversión alimenticia; EA, eficiencia alimenticia; GD, grasa dorsal; RCC, rendimiento de canal caliente; RCF, rendimiento de canal fría. \*Error estándar de la media.

Algunos autores reportan que existen otros factores que pueden estar involucrados en el contenido de grasa, más que el tratamiento en sí. Por ejemplo, Schiavon *et al.* (2010), tampoco reportaron efecto significativo en la deposición de grasa dorsal al adicionar CLA con niveles elevados de proteína en la dieta de novillos de la raza Piemontese. Sin embargo, ellos atribuyeron este resultado al efecto raza, al ser estos novillos de doble musculatura tienen una predisposición para depositar menos grasa corporal al igual que otras razas de doble musculatura. Esto sugiere que los borregos Pelibuey, a pesar que no tienen el potencial para lograr ganancias de peso elevados, su predisposición genética en la acumulación de grasa no se vio modificada con los diferentes niveles de CLA.

Es interesante observar que en el presente estudio, aunque no hubo diferencia significativa en el grosor de grasa dorsal, sí hubo cierta tendencia ( $P=0.65$ ) a disminuir de 3.17 a 3.00 mm, cuando no se incluyó CLAp y cuando se incluyó 75 g de CLAp animal por día,

respectivamente, disminución que representa el 5.4%. Al respecto, Gassmann *et al.* (2000) reportaron una disminución numérica, aunque no significativa, en el espesor de grasa dorsal en novillos alimentados con CLA en la dieta. En tanto, Sinclair *et al.* (2010) encontraron que con la adición de CLA en la dieta de ovejas lactantes, se redujo el espesor de grasa dorsal entre la 10<sup>a</sup> y 11<sup>a</sup> vértebra torácica, incrementando la producción de leche hasta 13%. El incremento en la producción de leche se debió a que el CLA contribuyó a que la energía ahorrada en la reducción de grasa en leche y espesor de grasa dorsal, fuera canalizada a incrementar la producción láctea (Sinclair *et al.*, 2010). En este mismo sentido, el ácido linoleico conjugado trans-10, cis-12 se ha relacionado con la reducción en el contenido de grasa de la leche en vacas lecheras (Baumgard *et al.*, 2001) y ovejas lactantes (Lock *et al.*, 2006), pero no en la grasa corporal de los animales (Castañeda-Gutiérrez *et al.*, 2005). Incluso, suplementando CLA protegido por periodos largos en la dieta, no hay muy marcado en grasa dorsal (Gillis *et al.*, 2004; Castañeda-Gutiérrez *et al.*, 2005), aunque el contenido de grasa en leche se modifica de manera significativa (de Veth *et al.*, 2005). La reducción en la grasa corporal, parece deberse principalmente a una reducción en la acumulación de la grasa y no a una movilización de la que ya se había acumulado antes del experimento (Pariza, 2004) razón por el cual, durante el transcurso del presente estudio no hubo cambios significativos en el espesor de la grasa dorsal, consecuentemente el grosor de la grasa dorsal fue ligeramente diferente pero no significativo ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos al momento del sacrificio de los animales.

Los resultados del presente estudio, contrastan con aquellos obtenidos en ratones y cerdos, donde se ha demostrado que al suplementar niveles similares de CLA promueve una disminución en el contenido de grasa corporal y un incremento en la proporción de músculo

magro (Sisk *et al.*, 2001). Situación similar fue reportada en cerdos por Ostrowska *et al.* (2003), cuando la grasa dorsal disminuyó de manera lineal al ir incrementando los niveles de CLA en la dieta (seis niveles: 0, 1.25, 2.5, 5.0, 7.5 y 10 g de CLA). El mecanismo por el cual el CLA modifica el tejido adiposo no se ha determinado completamente. Algunos estudios sugieren que el CLA aumenta el gasto de energía, como se demuestra con el aumento en el consumo de oxígeno en ratas (Choi *et al.*, 2004) o mediante la expresión de las proteínas desacoplantes (Ealey *et al.* 2002). Este mecanismo también, puede basarse en la reducción del número y masa de células adiposas y/o mediante la inhibición de la lipoproteína lipasa en células adiposas (Lin *et al.*, 2001), también mediante la mejora en la apoptosis de preadipocitos y adipocitos (Tsuboyama-Kasaoka *et al.*, 2000) o por la modulación de adipoquinas y citoquinas (Akahoshi *et al.* 2002).

Se sabe que el efecto de CLA en la adipogénesis y metabolismo de la grasa en animales depende de la edad, la alimentación, tipo de isómeros presentes (Bodkowski y Patkowska-Sokoła, 2013), duración del tratamiento (Castañeda-Gutiérrez *et al.*, 2005) y la especie animal (Evans *et al.*, 2002). Por ejemplo, las reducciones en el contenido de grasa, en el ratón es mayor que en otras especies (Azain *et al.* 2000). Bodkowski y Patkowska-Sokoła, (2013) suplementando corderos con aceite de semilla de uva isomerizados (49% de cis-9, trans-11; 46% de trans-10, cis-12 y 5% de cis-11, trans-13) disminuyó el espesor de la grasa dorsal 24.5%, hecho atribuible a la alta proporción de isómeros trans-10, cis-12 CLA en el suplemento utilizado.

## **Rendimiento en canal**

El rendimiento en canal en este estudio no fue modificado ( $P>0.05$ ) por la inclusión del CLAp en la dieta. Gillis *et al.* (2004) de la misma forma no detectaron diferencias en las características de rendimiento de las canales vacunos al suplementar con CLA protegido. Schlegel *et al.* (2012) al suplementar 100 o 250 g de CLA protegido a vaquillas jóvenes no lograron modificar los rendimientos canal frío y caliente; al igual que en bovinos de doble musculatura (Schiavon *et al.*, 2010). Sin embargo, la concentración de ácidos grasos se vio modificada ligeramente por dicha suplementación. La falta de respuesta en el rendimiento de la canal se puede relacionar con la eficiencia en la protección de los isómeros de CLA, variando la cantidad de isómeros que llega a intestino delgado, que son absorbidos y depositados en músculo. El flujo a duodeno de los isómeros de CLA depende de la composición de la dieta, se ha comprobado que un aumento en la proporción de concentrado y la administración de suplementos de aceites vegetales aumenta el flujo duodenal de CLA (Piperova *et al.*, 2002; Looor *et al.*, 2004). Dado que en la dieta empleada en el ensayo, el 80% era concentrado y con la inclusión de CLA protegido, sugiere un mayor flujo duodenal de CLA y por consiguiente una mayor absorción de isómeros en intestino delgado (Huang *et al.*, 2009), sin alterar las variables productivas incluyendo las características de la canal.

Estos resultados, son fuertemente contrastantes con los observados en ratones, ratas y cerdos, donde la suplementación con CLA provoca una notable mejora de la eficiencia de la alimentación, aumento de proteína corporal y la fuerte reducción de la acumulación de grasa corporal (Park *et al.*, 1997; Azain *et al.*, 2000). Sin embargo, estos resultados concuerdan

con los de otros estudios que demuestran que el CLAp no tienen efectos marginales sobre las características de rendimiento del ganado de carne (Wynn *et al.*, 2006; Gillis *et al.*, 2004; Schlegel *et al.*, 2012).

La variabilidad en la respuesta de los animales del presente estudio, pudo estar relacionado a factores como la disponibilidad del CLA suplementado, la edad y la raza (Wynn *et al.*, 2006). En este caso, se emplearon animales jóvenes de la raza Pelibuey, donde la aceptación de la dieta fue variable, haciéndose visible el efecto de la edad y la raza. La respuesta al CLA, al menos en bovinos se ha demostrado que es mejor entre más jóvenes los animales (Flórez-Díaz *et al.*, 2006). Sin embargo, de acuerdo a los resultados en vacas lecheras, la presencia del isómero trans-10 cis-12 CLA, sugiere la disminución en el contenido graso de la leche (Baumgard *et al.*, 2002), mostrando así una variación en la sensibilidad de los diferentes tejidos al efecto de los isómeros del CLA. Por tanto, el efecto del CLAp no se vio reflejado en los parámetros productivos ni en el espesor de la grasa dorsal, pero sí en el perfil de ácidos grasos del tejido adiposo y del músculo.

## 1.6 CONCLUSIÓN

Los resultados sugieren que los efectos de la suplementación del ácido linoleico conjugado protegido en la dieta de borregos de la raza Pelibuey, no ofrece beneficios en comportamiento productivo, pero sí una ligera disminución del espesor de grasa dorsal y conversión alimenticia con el nivel más alto de CLA protegido sin llegar a afectar el consumo de los animales. Con estas reducciones en la conversión alimenticia, a pequeña escala los beneficios no son perceptibles pero a mayor escala, esta pequeña disminución representaría beneficios económicos en cuanto a disminuir las cantidades de insumos empleados en la alimentación de los animales. Es necesario llevar a cabo más investigación que expliquen la falta de efecto de los isómeros del CLA en la composición corporal de los rumiantes, así como nuevas metodologías que mejoren la disponibilidad de los isómeros del CLA durante el paso del CLA protegido a través del trato gastrointestinal de los rumiantes.

## 1.7 LITERATURA CITADA

- Akahoshi, A., Y. Goto, K. Murao, T. Miyazaki, M. Yamasaki, M. Nonaka, K. Yamada, M. 2002. Conjugated linoleic acid reduces body fats and cytokine level of mice. *Biosci. Biotech. Biochem.* 66: 916 – 920.
- Alasnier, C., O. Berdeaux, J. M. Chardigny, and J. L. Sebedie. 2002. Fatty acid composition and conjugated linoleic acid content of different tissues in rats fed individual conjugated linoleic acid isomers given as triacylglycerols. *J. Nutr. Biochem.* 13: 337–345.
- Azain, M. J., D. B. Hausman, M. B. Sisk, W. P. Flaut, and D. E. Jewell. 2000. Dietary conjugated linoleic acid reduces rat adipose tissue cell size rather than cell number. *J. of Nutr.* 130: 1548 – 1554.
- Baumgard, L. H., J. K. Sangster, and D. E. Bauman. 2001. Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing supplemental amounts of *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid (CLA). *J. Nutr.* 131: 1764 – 1769.
- Baumgard, L.H., B.A. Corl, D.A. Dwyer, A. Saebo, and D. E. Bauman. 2000. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *American J. of Physiol.* 278: R179 - R184.
- Bodkowski, R., and B. Patkowska-Sokoła. 2013. Reduction of body fatness and meat fat content in lambs by supplementing their diet with isomerised grapeseed oil. *Animal Science Papers and Reports.* 31: 229-238.

- Boles, J. A., R. W. Kott, P. G. Hatfield, J. W. Bergman, and C. R. Flynn. 2005. Supplemental safflower oil affects the fatty acid profile, including conjugated linoleic acid, of lamb. *J. Anim. Sci.* 83: 2175 – 2181.
- Castañeda-Gutiérrez E., T. R. Overton, W. R. Butler, and D. E. Bauman. 2005. Dietary supplements of two doses of calcium salts of conjugated linoleic acid during the transition period and early lactation. *J. Dairy Sci.* 88: 1078 – 1089.
- Choi, J.S., M.H. Jung, H.S. Park, and J. Song. 2004. Effect of conjugated linoleic acid isomers on insulin resistance and mRNA levels of genes regulating energy metabolism in high-fat-fed rats. *Nutrition.* 20: 1008 – 1017.
- Choi, Y., Y. Park, M. W. Pariza, and J. M. Ntambi. 2001. Regulation of stearoyl-CoA desaturase activity by the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid in HepG2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 284: 689 – 693.
- de Veth, M.J., S.K. Gulati, N.D. Luchini, and D.E. Bauman. 2005. Comparison of calcium salts and formaldehyde-protected conjugated linoleic acid in inducing milk fat depression. *J. Dairy Sci.* 88: 1685 – 1693.
- Ealey, K. N., A. El-Soehy, and M. C. Archer. 2002. Effect of dietary conjugated linoleic acids on the expression of uncoupling in mice and rats. *Lipids.* 37: 853 – 861.
- Evans, M. E., J. M. Brown, and M.K. McIntosh. 2002. Isomer-specific effect of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *J. Nutr. Biochem.* 13: 508 – 516.

- FAO. 2010. Grasas y ácidos grasos en la nutrición humana. Fundación Iberoamericana de Nutrición (FINUT). Granada, España, 2012. 175 p.
- Flórez-Díaz H., E. B. Kegley, G.F. Erf, D.L. Kreider, K.P. Coffey, N.D. Luchini, and S.L. Krumpelman. 2006. Influence of live weight gain and calcium salts of conjugated linoleic acid on growth performance and immune function of growing cattle. In: Arkansas animal science, Department report. Zelpha, B. J., and D. Wayne Kellogg (eds.). University of Arkansas System. December, 2006. pp. 167 – 170.
- Gassman, K., F. C. Parrish, D. C. Beitz, and A. Trenkle. 2001. Effects of Feeding Calcium Salts of Conjugated Linoleic Acid (CLA) to Finishing Steers. In: 2001 Beef Research Report - Iowa State University.
- Geay, Y., D. Bauchart, Jean-François Hocquette, and J. Culioli. 2001. Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat. *Reprod. Nutr. Dev.* 41: 1 – 26.
- Gillis, M. H., S. K. Duckett, and J. R. Sackmann. 2007. Effects of supplemental rumen-protected conjugated linoleic acid or corn oil on lipid content and palatability in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 85: 1504 – 1510.
- Gillis, M. H., S. K. Duckett, J. R. Sackmann, C. E. Realini, D. H. Keisler, and T. D. Pringle. 2004. Effects of supplemental rumen-protected conjugated linoleic acid or linoleic acid on feedlot performance, carcass quality, and leptin concentrations in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 82: 851 – 859.

- Hristov, A. N., L. R. Kennington, M. A. McGuire, and C. W. Hunt. 2005. Effect of diets containing linoleic acid- or oleic acid-rich oils on ruminal fermentation and nutrient digestibility, and performance and fatty acid composition of adipose and muscle tissues of finishing cattle. *J. Anim. Sci.* 83: 1312 - 1321.
- Huang, Y., J.P. Schoonmaker, S.L. Oren, A. Trenkle, and D.C. Beitz. 2009. Calcium salts of CLA improve availability of dietary CLA. *Livestock Sci.* 122: 1 – 7.
- Ip, C., Y. Dong, M. M. Ip, S. Banni, G. Carta, E. Angioni, E. Murru, S. Spada, M. P. Melis, and A. Saeno. 2002. Conjugated linoleic acid isomers and mammary cancer prevention. *Nutr. Cancer.* 43:52 - 58.
- Lin, Y., A. Kreeft, J.A. Schuurbiens, and R. Draijer. 2001. Different effects of conjugated linoleic acid isomer on lipoprotein lipase activity in 3T3-L1 adipocytes. *J. Nutr. Biochem.* 12: 183 – 189.
- Lock, A. L., B. M. Teles, J.W. Perfield II, D. E. Bauman, and L.A. Sinclair. 2006. A conjugated linoleic acid supplement containing trans-10, cis-12 reduces milk fat synthesis in lacting sheep. *J. of Dairy Sci.* 89: 1525 - 1532.
- Loor, J. J., K. Ueda, A. Ferlay, Y. Chilliard, and M. Doreau. 2004. Biohydrogenation, duodenal flow, and intestinal digestibility of trans fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage: concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 2472 - 85.

- Martin, J. C., S. Gregoire, M. H. Siess, M. Genty, J. M. Chardigny, O. Berdeaux, P. Juaneda, and J. L. Sebedio. 2000. Effects of conjugated linoleic acid isomers on lipid-metabolizing enzymes in male rats. *Lipids*. 35: 91 – 98.
- Martin, J. C., S. Gregoire, M. H. Siess, M. Genty, J. M. Chardigny, O. Berdeaux, P. Juaneda, and J. L. Sebedio. 2000. Effects of conjugated linoleic acid isomers on lipid-metabolizing enzymes in male rats. *Lipids*. 35: 91 – 98.
- NRC. 2006. Nutrient requirements of sheep. National Academy Press. Sixth Revised Edition. Washington, D. C. USA.
- Ntambi, J. M., Y. Choi, and Y. C. Kim. 1999. Regulation of stearoyl-CoA desaturase by conjugated linoleic acid. Pages 340–347 in *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, 1st ed., vol. 1. M. P. Yurawecz, M. M. Mossoba, J. K. G. Kramer, M. W. Pariza, and G. J. Nelson, ed. AOCS Press, Champaign, IL.
- Ostrowska, E., R. F. Cross, M. Muralitharan, D. E. Bauman, and F. R. Dunshea. 2003. Dietary conjugated linoleic acid differentially alters fatty acid composition and increases conjugated linoleic acid content in porcine adipose tissue. *Br. J. Nutr.* 90: 915 – 928.
- Pariza, M. W. 2004. Perspective on the safety and effectiveness of conjugated linoleic acid. *Am. J. Clin. Nutr.* 79(supp): 1132S – 6S.
- Park, Y., J. M. Storkson, J. M. Ntambi, M. E. Cook, C. J. Sih, and M. W. Pariza. 2000. Inhibition of hepatic stearoyl-CoA desaturase activity by trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid and its derivatives. *Biochim. Biophys. Acta.* 1486: 285 – 292.

- Park, Y., J. M. Storkson, K. J. Albright, W. Liu, and M. W. Pariza. 1999. Evidence that the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. *Lipids*. 34: 235 – 241.
- Park, Y., K. J. Albright, W. Lui, J. M. Storkson, M. E. Cook, and M. W. Pariza. 1997. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*. 32: 853 – 858.
- Piperova, L. S., U. Moallem, B. B. Teter, J. Sampugna, M. P. Yurawecz, K. M. Morehouse, D. Luchini, and R. A. Erdman. 2004. Changes in milk fat in response to dietary supplementation with calcium salts of *trans*-18-1 or conjugated linoleic fatty acids in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 3836 – 3844.
- Rainer, L., and C. J. Hegiss. 2004. Conjugated Linoleic Acid: Health implications and effects on body composition. *J. Am. Diet. Assoc.* 104: 963 – 968.
- SAS Institute. 2009. SAS User's Guide: Statistics, version 8.1. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- Sackmann, J. R., S. K. Duckett, M. H. Gillis, C. E. Realini, A. H. Parks, and R. B. Eggelston. 2003. Effects of forage and sunflower oil levels on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *J. Anim. Sci.* 2003. 81: 3174 – 3181.
- Schiavon, S., F. Tagliapietra, M. Dal Maso, L. Bailoni, and G. Bittante. 2010. Effects of low-protein diets and rumen-protected conjugated linoleic acid on production and

carcass traits of growing double-muscled Piemontese Bulls. *J. Anim. Sci.* 88: 3372 – 3383.

Schlegel, G., R. Ringseis, M. Shibani, E. Most, M. Schuster, F. J. Schwarz, and K. Eder. 2012. Influence of a rumen-protected conjugated linoleic acid mixture on carcass traits and meat quality in young simmental heifers. *J. Anim. Sci.* 90: 1532 – 1540.

Sinclair, L.A., M.P.B. Weerasinghe, R.G. Wilkinson, M.J. de Veth, and D.E. Bauman. 2010. A supplement containing trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid reduces milk fat yield but does not alter organ weight or body fat deposition in lactating ewes. *J. Nutr.* 140: 1949 – 1955.

Sisk, M. B., D. B. Hausman, R. J. Martin, and M. J. Azain. 2001. Dietary conjugated linoleic acid reduces adiposity in lean but not obese Zucker rats. *J. Nutr.* 131: 1668–1674.

Smith, S. B., T. S. Hively, G. M. Cortese, J. J. Han, K. Y. Chung, P. Castenada, C. D. Gilbert, V. L. Adams, and H. J. Mersmann. 2002. Conjugated linoleic acid depresses the delta-9 desaturase index and stearoyl coenzyme A desaturase activity in porcine subcutaneous adipose tissue. *J. Anim. Sci.* 80: 2110 – 2115.

Tischendorf, F., F. Schone, U. Kirchheim, and G. Jahreis. 2002. Influence of a conjugated linoleic acid mixture on growth, organ weights, carcass traits and meat quality in growing pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)*. 86: 117 – 128.

Tsuboyama-Kasaoka, N., M. Takahashi, K. Tanemura, H. J. Kim, T. Tange, M. Okuyama, M. Kasai, S. Ikemoto, and O. Ezaki. 2000. Conjugated linoleic acid supplementation

reduces adipose tissue by apoptosis and develops lipodystrophy in mice. *Diabetes*. 49: 1534 – 1542.

Wiegand, B. R., F. C. Parrish, J. E. Swan, S. T. Larsen, and T. J. Baas. 2001. Conjugated linoleic acid improves feed efficiency, decreases subcutaneous fat, and improves certain aspects of meat quality in stress-genotype pigs. *J. Anim. Sci.* 79: 2187 – 2195.

Wood, J.D., M. Enser, A.V. Fisher, G.R. Nute, P.R. Sheard, R.I. Richardson, S.I. Hughes, and F.M. Whittington. 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Sci.* 78: 343 – 358.

Wynn, R. J., Z. C. T. R. Daniel, C. L. Flux, J. Craigon, A. M. Salter, and P. J. Buttery. 2006. Effect of feeding rumen-protected conjugated linoleic acid on carcass characteristics and fatty acid composition of sheep tissues. *J. Anim. Sci.* 83: 3440 – 3450.

## CAPITULO II

### EFECTO DEL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO PROTEGIDO EN LA DIGESTIBILIDAD DE LA DIETA DE BORREGOS PELIBUEY

#### 2.1 RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la adición de cuatro niveles (0, 25, 50 y 75 g/animal/día) de ácido linoleico conjugado protegido (CLAp) (Lutrell Pure®) en una dieta concentrada para ovinos Pelibuey, en la digestibilidad y fermentación de la dieta. Muestras del alimento fueron incubadas a 3, 6, 9, 12, 24 y 48 h, para identificar los cambios en digestibilidad *in vitro* de materia seca (DIVMS), degradación de fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA), ácidos grasos volátiles (AGV), nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) y producción de gas. El diseño experimental usado fue bloques generalizados al azar. Los datos generados fueron analizados con el procedimiento GLM de SAS (versión 9.0), usando la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) para la comparación de medias. No hubo diferencias entre tratamientos ( $P > 0.05$ ) en ninguna de las variables evaluadas, cuyos promedios generales para DIVMS, FDN, FDA, AGV, N-NH<sub>3</sub> y producción de gas fueron: 31.49 %; 38.70 %; 14.68 %; 57.12 mMolL<sup>-1</sup>; 19.54 mg N dL<sup>-1</sup>; 135.653 mL/g/muestra, respectivamente. En las condiciones en que se llevó a cabo el experimento, adicionar CLA protegido en la dieta de borregos Pelibuey, no altera las variables de degradación ni fermentación ruminal, demostrando efectividad de la protección de los isómeros de CLA, sin llegar a modificar los demás componentes nutricionales de la dieta.

**Palabras clave:** CLAp, degradación, FDN, FDA.

## 2.2 SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the effect of four levels (0, 25, 50 and 75 g/animal/day) of protected conjugated linoleic acid (CLAp) (Luttrell Pure®) in the diet of Pelibuey sheep on the diet degradation and ruminal fermentation. Diet samples were incubated for 3, 6, 9, 12, 24 and 48 h, to determine changes *in vitro* degradation of dry matter (IVDMD), degradation of neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF), volatile fatty acids (VFA), ammonia nitrogen (NH<sub>3</sub>-N) and gas production. The experimental design was a randomized complete block, and the results were analyzed using the GLM procedure of SAS (version 9.0) using the Tukey test ( $P \leq 0.05$ ) for comparison of means. There were no differences among treatments ( $P > 0.05$ ) in any of the evaluated variables, whose averages for IVDMD, NDF and ADF degradation, VFA, NH<sub>3</sub>-N and gas production, were 31.49 %; 38.70 %; 14.68 %; 57.12 mMolL<sup>-1</sup>; 19.54 mgNdL<sup>-1</sup>; 135.653 mL/g/sample, respectively. Under the conditions the experiment was carried out, there is not any change on ruminal fermentation by adding protected CLA to the Pelibuey sheep diet, demonstrating the effectiveness of the protection of CLA isomers without actually modifying the other nutritional components of the diet of sheep.

**Keywords:** CLAp, degradation, NDF, ADF.

### 2.3 INTRODUCCIÓN

La carne de rumiante y sus derivados son la principal fuente de ácido linoleico conjugado (CLA) en la dieta humana (Lawson *et al.*, 2001). El CLA es un término colectivo que se refiere a isómeros del ácido linoleico (cis-9, cis-12), siendo los principales el *cis*-9, *trans*-11 y el *trans*-10, *cis*-12 (Bauman *et al.*, 2000), y su importancia radica en la capacidad que posee para inhibir diferentes enfermedades, entre ellas, el desarrollo tumoral en órganos como próstata (Yang *et al.*, 2003), atributos que hacen del CLA un factor primordial a considerar en la alimentación de rumiantes.

Sin embargo, al igual que los aceites vegetales y de pescado, con alto contenido de ácidos grasos insaturados, el CLA es susceptible a la biohidrogenación por parte de las bacterias ruminales cuando se incluye como suplemento en la dieta, por lo que su protección es una alternativa viable para evitar dicho proceso. En este sentido, sea en forma de sales de calcio (Perfield *et al.*, 2002), con formaldehído (de Veth *et al.*, 2005), unido a amidas (Moon *et al.*, 2008) o encapsulado (Silg *et al.*, 2010), es posible proteger el CLA y así facilitar la disponibilidad de estos isómeros para su absorción y deposición en los diferentes tejidos del animal, asegurando así su mejor aprovechamiento y mayor concentración en la carne para consumo humano. A este respecto, existe poca o nula información, en particular referente al metabolismo y digestión de nutrientes por efecto de incluir CLA protegido en la dieta. Así mismo, fisiológicamente, la suplementación con CLA en la dieta ha sido relacionado con la reducción en la concentración de leptina en sangre, en humanos y en animales de laboratorio (Medina *et al.*, 2000; Rahman *et al.*, 2001), influyendo en el consumo y absorción de los demás componentes de la dieta por el carácter anorexigénico de la leptina, contrario a lo que ocurre al suplementar aceites vegetales en la dieta donde los niveles de leptina incrementan (Iritani *et al.*,

2000) y correlacionándose positivamente con el marmoleo de la carne (Geary *et al.*, 2003). En este mismo sentido suplementar niveles elevados de aceite sin proteger, altos en ácidos grasos poliinsaturados (Wachira *et al.*, 2000; Sinclair *et al.*, 2005), provoca una reducción en la degradación de la fibra, efecto atribuible principalmente al carácter inhibitorio de los ácidos grasos insaturados sobre las principales bacterias fibrolíticas, reduciendo en consecuencia la degradación de las fibras en la dieta. Esto sugiere que suplementar niveles elevados de CLA protegido en la dieta concentrada de borregos en finalización podría estar afectando la digestión de las fibras.

Por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del CLAp en las diferentes variables de fermentación ruminal en condiciones *in vitro* así como detectar las interacciones que pueda tener el CLA con la degradación de las fibras en la dieta de rumiantes.

## **2.4 MATERIALES Y MÉTODOS**

El estudio se realizó en el Laboratorio de Nutrición Animal del Programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados, ubicado en el km 36.5 carretera México – Texcoco, en Montecillo Texcoco, estado de México, en las coordenadas geográficas 19° 20' latitud norte y 98° 53' longitud oeste, con una altitud de 2250 msnm, el clima corresponde al más seco de los climas templados; la precipitación media anual es de 636.5 mm, con régimen de lluvias en verano y temperatura media anual de 15.2 °C (García, 2004). Para la realización del presente estudio se utilizaron dos becerros de la raza Holstein de 2 años de edad y con peso vivo de 310 kg, canulados ruminalmente, alojados en un corral de 40 m<sup>2</sup>, con piso de concreto, agua y alimento a libre acceso. La dieta de los animales fue basada en una proporción 50% alfalfa achicalada y 50% heno de avena, y fue ofrecida en la mañana (8:00 a.m.) y tarde (4:00 p.m.). La dieta (Cuadro 1) fue formulada de

acuerdo a las tablas de requerimientos del NRC (2006), con cuatro tratamientos: T1, dieta base sin CLAp; T2, dieta base con 25g de CLAp; T3, dieta base con 50 g de CLAp; y T4, dieta base con 75 g de CLAp animal/día. De cada una de los tratamientos se tomaron muestras de 0.85 g para llevar a cabo la digestibilidad *in vitro* y fueron colocados en frascos de vidrio con 64 mL de inoculo, con las siguientes cantidades: T1: testigo, 0.85 g de alimento; T2: 85 g de alimento con 0.0167 g de CLAp; T3: 0.85 g de alimento con 0.033 g de CLAp T4: 0.85 g de alimento con 0.050 g de CLAp, las cuales fueron incubadas en los frascos de vidrio de acuerdo a la técnica descrita por Herrera (2013).

**Cuadro 1. Ingredientes y composición química de la dieta usados en la alimentación de borregos Pelibuey.**

<b>Ingrediente</b>	<b>(%)</b>
Maíz (grano)	45.50
Sorgo (grano)	23.00
Pasta de soya	12.00
Rastrojo de maíz	14.21
Melaza	2.00
Prem. Vit+Min*	2.00
Urea	1.00
Sal común	0.31
Composición química	(%)
Materia seca	92.00
Proteína	15.50
FDN	21.11
FDA	8.93
Cenizas	5.70

\*Vitasal ovino plus: 24, 3, 2, 8,12, 0.50, 0.50 y 0.50% de Ca, P, Mg, Na, Cl, K y S y antioxidante; 2000, 5.00 4000, 2000, 5000, 100, 30 y 60 ppm de lasolacida, Cr, Mn, Fe, Zn, I, Se, y Co; 500 000, 150 000, 1000 UI de vitamina A, vitamina D y vitamina E, respectivamente. FDN, fibra detergente neutra; FDA, fibra detergente ácida

Para determinar los cambios en producción de gas, liberación de N-NH<sub>3</sub>, producción de AGV y digestión de fibras (FDN y FDA) se realizó siguiendo la técnica de Tilley y Terry (1963). Se realizó una mezcla de saliva de McDougall (Anexo 1) a un pH de 6.8 y líquido ruminal (4:1), 64 mL se colocaron en frascos de vidrio (85 mL) con un tapón de goma y sellados herméticamente con arillos metálicos, que contenían los 0.85 g de las dietas (Cuadro 1.); se agregó CO<sub>2</sub> a cada frasco, que fue tapado para mezclar su contenido, se colocó en baño maría a 39°C e incubado a 3, 6, 9, 12, 24 y 48 horas; por cuadruplicado, repetido tres veces en el tiempo.

Los datos se asignaron en un modelo en bloques al azar repetidos en el tiempo, estos datos fueron analizados con el procedimiento GLM (SAS, 1999) y las medias se compararon con la prueba de Tukey (P≤0.05) (Steel y Torrie, 1996).

El modelo estadístico para estas variables fue la siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \epsilon_{ij} \quad i= 1, 2, \dots, t \quad j= 1, 2, \dots, t$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = variable respuesta en tratamiento i, repetición j.

$\mu$  = media general

$\alpha_i$  = efecto de tratamiento

$\beta_j$  = efecto del bloque

$\epsilon$  = error aleatorio

## 2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Digestibilidad *in vitro* de materia seca (DIVMS)

No hubo diferencias ( $P>0.05$ ) en cuanto a los valores de DIVMS en ninguno de los horarios de incubación (Cuadro 2) por efecto de adicionar CLA protegido en la dieta de ovinos. Este resultado es en cierta manera, lo que se esperaba, especialmente tomando en consideración que el CLA está protegido contra la degradación microbiana, dejando a los microorganismos libres para poder actuar sobre los demás sustratos de la dieta. Aunque existe la idea generalizada de que los ácidos grasos insaturados afectan negativamente la fermentación ruminal (Church *et al.*, 2003), en un estudio realizado por Toral *et al.* (2008) en condiciones *in situ* e *in vitro* evaluando dietas altas en concentrados suplementado con una combinación de aceite de girasol y pescado (20 g/kg), la fermentación ruminal no se vio afectada.

**Cuadro 2. Digestibilidad *in vitro* de la materia seca (%DIVMS).**

Tratamiento	Horario de incubación (horas)					
	3	6	9	12	24	48
Sin CLA	12.31	12.69	20.78	33.07	46.52	61.73
CLA25	13.41	13.98	21.33	32.62	44.44	60.27
CLA50	13.34	14.35	21.30	33.56	45.92	61.52
CLA75	12.66	14.86	26.38	31.97	47.01	59.76
P	0.605	0.624	0.042	0.105	0.161	0.804
EEM*	0.33	0.59	0.82	0.24	0.43	0.80

\*Error estándar de la media. No hay diferencias significativas ( $P>0.05$ ).

En este estudio, la falta de diferencias entre tratamientos no es solo debido al efecto protector que ejerce el recubrimiento del CLA, incluso, estos datos pueden ser comparables con los resultados obtenidos con fuentes de PUFA's sin protección como es el aceite de

pescado y de semilla de oleaginosas. Dado que los lípidos son hidrolizados extensamente en el rumen por las lipasas microbianas, se da la liberación de ácidos grasos de cadena larga que pueden inhibir la actividad bacteriana. Entre los ácidos grasos de cadena larga, los insaturados son más antimicrobianos a comparación de los saturados (Harfoot y Hazlewood, 1997), por lo tanto, la biohidrogenación sirve para proteger a los microorganismos del efecto tóxico. La toxicidad microbiana de los PUFA-3, presentes en grandes cantidades en el aceite de pescado, se sabe que es mayor que la toxicidad del ácido linoleico abundante en aceite de girasol (Maia *et al.*, 2007). A pesar de esto, en varios estudios, estos ácidos grasos no ejercieron efectos negativos sobre los parámetros de fermentación ruminal en estudios *in vitro* (Gonthier *et al.*, 2004; Alizadeh *et al.*, 2010).

### **Producción de gas**

La producción acumulada de gas (Cuadro 3) no fue diferente ( $P>0.04$ ) en ningún horario de incubación por efecto de incluir CLA protegido en la dieta de borregos, y en las primeras horas de incubación tuvo un comportamiento exponencial, que va de acuerdo con la rápida fermentación de carbohidratos en las primeras horas de incubación.

Los valores obtenidos de producción de gas, son ligeramente inferiores a los reportados en otros trabajos para dietas con alto contenido energético con inclusión de aceites sin protección y con alto contenido de PUFA's (Herrera, 2013; Toral *et al.*, 2008). Esto supone que tanto los aceites protegidos como los que no lo están, sus efectos en la producción de gas son casi nulos, pudiendo afectar a la población bacteriana de manera insignificante pero sin alterar los productos de la fermentación. Rodríguez *et al.* (2004) obtuvieron mayores niveles de producción de gas, argumentando que dicha variación de la producción de gas se

ve afectado por el tipo de ingredientes usados en la dieta, tipo de fibra, tiempo de exposición, colonización y degradación. Además de la composición química de las especies evaluadas, su edad es un factor a considerar, ya que el incremento de la edad de la planta aumenta el contenido de lignina y disminuye la producción de gas, así como la velocidad de producción, pues el contenido de celulosa será menos disponible (Fondevila *et al.*, 2002).

**Cuadro 3. Producción acumulada de gas (mL) por gramo de muestra (MS) *in vitro*.**

Tratamiento	Horario de incubación (horas)					
	3	6	9	12	24	48
<b>Sin CLA</b>	19.06	62.54	116.93	165.49	216.25	245.08
<b>CLA25</b>	18.96	61.08	113.36	158.85	213.15	246.06
<b>CLA50</b>	19.17	63.22	115.99	162.66	210.98	240.99
<b>CLA75</b>	20.49	62.35	112.71	157.02	209.25	244.04
<b>P</b>	0.137	0.569	0.414	0.299	0.808	0.979
<b>EEM*</b>	0.26	0.54	1.03	1.71	2.59	4.28

\*Error estándar de la media. No hay diferencias significativas ( $P>0.05$ ).

### **Producción de ácidos grasos volátiles**

La producción de ácidos grasos volátiles *in vitro* se presenta en el Cuadro 4. En ninguno de los horarios de incubación hubo diferencias ( $P>0.05$ ) entre tratamientos, situación que refuerza la idea de la efectiva protección de los isómeros del CLA, en caso contrario, habría variaciones en las concentraciones de AGV. Cuando no hay protección en los ácidos grasos, existe una ligera inhibición de la actividad microbiana por los suplementos de aceite que conduce a una reducción en la concentración total de AGV en el rumen, como lo observo Lee *et al.* (2005) con el más alto nivel de inclusión de aceite de pescado en la dieta de

becerros en crecimiento y en otros estudios en ovejas y vacas (Fievez *et al.*, 2003). Keady y Mayne, (1999); Shingfield *et al.* (2008); Toral *et al.* (2008) reportaron efectos no significativos de los suplementos de aceite sobre la concentración total de AGV.

**Cuadro 4. Producción de ácidos grasos volátiles totales y relación acético/propiónico.**

Tratamiento	Horario de incubación (horas)					
	3	6	9	12	24	48
<b>AGV totales mMOL<sup>-1</sup></b>						
Sin CLA	31.53	46.495	54.85	51.28	69.34	85.45
CLA25	32.77	41.643	53.23	51.41	64.18	86.47
CLA50	33.94	49.098	59.41	51.94	68.96	88.30
CLA75	38.74	53.868	64.33	49.61	60.96	83.03
<b>P</b>	0.516	0.179	0.287	0.993	0.794	0.347
<b>EEM*</b>	0.53	2.00	2.19	2.66	3.19	1.02
<b>Relación acético/propiónico</b>						
Sin CLA	3.16	2.67	2.73	2.51	2.49	2.65
CLA25	3.01	2.62	2.60	2.50	2.58	2.53
CLA50	2.97	2.67	2.58	2.45	2.45	2.56
CLA75	3.26	2.60	2.51	2.48	2.53	2.52
<b>P</b>	0.862	0.998	0.965	0.999	0.987	0.989
<b>EEM*</b>	0.12	0.14	0.14	0.13	0.12	0.13

\*Error estándar de la media. Solamente en AGV totales hay diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) en el primer periodo de incubación (hora 3).

**Cuadro 5. Producción de ácidos grasos volátiles: acético, propiónico y butírico.**

Tratamiento	Horario de incubación (horas)					
	3	6	9	12	24	48
<b>Ácido acético (%)</b>						
Sin CLA	69.01	64.52	64.41	63.86	61.92	62.86
CLA25	68.12	64.31	63.00	61.92	62.55	62.10
CLA50	68.17	64.18	62.66	61.80	60.14	62.47
CLA75	68.76	63.95	61.99	61.95	62.26	62.17
<b>P</b>	0.869	0.986	0.288	0.607	0.113	0.890
<b>EEM*</b>	0.42	0.50	0.45	0.60	0.39	0.35
<b>Ácido propiónico (%)</b>						
Sin CLA	22.20	25.33	24.14	26.14	25.74	24.50
CLA25	22.98	25.38	25.19	25.97	24.99	25.55
CLA50	23.25	24.93	25.51	26.25	25.63	25.19
CLA75	21.80	25.55	25.84	26.14	25.32	25.48
<b>P</b>	0.912	0.998	0.973	0.999	0.997	0.991
<b>EEM*</b>	0.74	1.11	1.21	1.25	1.14	1.15
<b>Ácido butírico (%)</b>						
Sin CLA	8.79	10.90	11.45	10.00	12.34	12.65
CLA25	8.90	10.51	11.82	12.12	12.46	12.36
CLA50	8.59	10.32	11.83	11.96	14.23	12.34
CLA75	9.45	10.16	12.18	11.91	12.43	12.35
<b>P</b>	0.862	0.984	0.995	0.898	0.914	0.999
<b>EEM*</b>	0.34	0.63	0.88	1.04	1.00	0.84

\*Error estándar de la media. No hay diferencias significativas ( $P>0.05$ ).

En lo que respecta a la proporción de acético/propiónico (Cuadro 4), tampoco hubo diferencias ( $P>0.05$ ), a menudo se ha reportado que la adición de aceites altos en PUFA a la dieta de rumiantes, resulta en un aumento en la proporción molar de la concentración de propionato y una disminución de acetato (Wachira *et al.*, 2000; Fievez *et al.*, 2003). Resultados similares se observaron cuando el ácido linoleico se incubó *in vitro* con líquido ruminal de corderos (Zhang *et al.*, 2008), sin embargo, no todos los autores han encontrado resultados similares, ya que la suplementación con aceite de girasol en ganado vacuno (*in vivo*) no afecta las proporciones de AGV del rumen (Beauchemin *et al.*, 2007; Toral *et al.*, 2008).

Desde un punto de vista fisiológico, un cambio en las poblaciones microbianas del rumen puede resultar en cambios en la biohidrogenación, en el tipo de ácidos grasos que pasan a intestino delgado y en consecuencia en el perfil de ácidos grasos de la leche (Palmquist *et al.*, 2005) y tejido adiposo del animal.

En cuanto a las concentraciones del ácido butírico (Cuadro 5), no hubieron diferencias significativas ( $P>0.05$ ) entre tratamientos. Estos resultados pueden ser comparables con los obtenidos por Sinclair *et al.* (2005) y Shingfield *et al.* (2008), quienes al emplear aceite de girasol no se modificaron las concentraciones de ácido butírico en líquido ruminal de vacas lecheras. Keady y Mayne (1999) y Beauchemin *et al.* (2007) reportaron resultados similares al suplementar aceites vegetales en la dieta de vacas lecheras. Este comportamiento indica que, con o sin protección no se modifican las concentraciones de los AGV, en especial el ácido butírico. Sin embargo, los resultados difieren con los obtenidos en otros estudios, en los cuales se obtuvo niveles bajos de ácido butírico al incluir aceite de pescado o ácido

linoleico en la dieta (Fievez *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2008). La reducción en el ácido butírico se le atribuye a las variaciones en las poblaciones de bacterias productoras de butirato, como es el caso de *Eubacterium ruminantium* y *Butyrivibrio fibrisolvens*, estas bacterias se sabe que son inhibidas por los ácidos grasos poliinsaturados (Maia *et al.*, 2007), mientras que las poblaciones de *Butyrivibrio fibrisolvens* son tolerantes a altas concentraciones de ácidos grasos insaturados (Maia *et al.*, 2007), la reducción en la población de esta última se presenta por lo general cuando los animales reciben dietas altas en concentrado (Harfoot y Hazlewood, 1997). En el presente estudio, no hubo disminución de ácido butírico por efecto del CLAp aun empleando una dieta concentrada (80% de granos).

### **Nitrógeno amoniacal**

Las concentraciones de nitrógeno amoniacal se presentan en el Cuadro 6. Como se puede observar, las concentraciones de nitrógeno amoniacal no cambiaron con el nivel de inclusión de CLAp. Estas concentraciones no coinciden con los obtenidos por otros autores como Toral *et al.* (2008) en condiciones *in situ*, en donde las concentraciones de amoníaco eran siempre mayor a los 100 mg/dL, siendo que el nivel más alto obtenido en este estudio fue de 39.62 mg/dL, estas concentraciones inclusive son inferiores a los niveles que Van Soest, (1994) reporta como óptimas para la eficiencia de la síntesis de aminoácidos y el crecimiento microbiano.

**Cuadro 6. Concentración de Nitrógeno amoniacal (mg N dL<sup>-1</sup>) con diferentes niveles de inclusión de CLAp para digestibilidad *in vitro* de materia seca.**

Tratamiento	Horario de incubación (horas)					
	3	6	9	12	24	48
<b>Sin CLA</b>	19.72	15.78	12.15	15.94	18.35	33.72
<b>CLA25</b>	20.25	14.86	13.65	11.36	18.15	34.71
<b>CLA50</b>	19.65	15.54	15.49	11.08	17.30	39.62
<b>CLA75</b>	21.56	15.46	14.94	11.85	23.44	34.38
<b>P</b>	0.969	0.997	0.806	0.568	0.691	0.875
<b>EEM*</b>	1.47	1.37	1.26	1.35	1.94	2.83

\*Error estándar de la media. No hay diferencias significativas ( $P > 0.05$ ).

Según Shingfield *et al.* (2008), la inclusión de aceite de oleaginosas tiende a reducir la concentración de nitrógeno amoniacal en el rumen de bovinos, mientras que la administración de aceite de pescado tiende a aumentarlo (Keady y Mayne, 1999). En el caso del presente trabajo, las concentraciones de nitrógeno amoniacal se mantuvieron bajas pero dentro de un mismo rango en todos los tratamientos, esto ayuda a entender que hay un efecto nulo del CLAp en la fermentación ruminal dado que el testigo no mostró diferencia ( $P > 0.05$ ) con respecto al nivel más alto de inclusión de CLAp, en consecuencia, al no haber efecto en el amoníaco o bien los AGV procedente de la desaminación de los aminoácidos (valerato y AGV de cadena ramificada) es un indicativo de que el metabolismo del nitrógeno no fue alterado.

### **Fibra detergente neutra y fibra detergente ácido**

La degradación ruminal de FDN y FDA no fue afectada ( $P>0.05$ ; Cuadro 7) por la suplementación de CLAp en este estudio, esto es comparable con los resultados obtenidos por Keady y Mayne (1999), quienes no observaron efecto alguno en las fibras al suplementar aceites altos en PUFA's en la dieta de vacas, incluso habiendo un cambio en el patrón de fermentación ruminal. Por otra parte, las consecuencias de suplementar aceite sin proteger reportados por otros autores (Wachira *et al.*, 2000; Sinclair *et al.*, 2005) incluyen reducciones, sin efectos o incluso aumento en la degradación de la fibra. En el presente estudio, el haber empleado de una dieta alta en granos, podría haber limitado el crecimiento de bacterias celulolíticas predominantes, que son generalmente las más afectadas por dietas altas en granos y más sensibles por la suplementación de aceites (Doreau y Chilliard, 1997), en caso de haber disminución de las principales bacterias celulolíticas, otras bacterias, capaces de degradar la fibra, pudieron haber ocupado sus espacios, lo que explicaría la ausencia de cualquier efecto sobre la degradación de las fibras (Toral *et al.*, 2008).

Se ha reportado que para exista una reducción en la fermentación y degradación de los componentes de la dieta, se tienen que cumplir tres condiciones principales: el primero, el tipo de aceite, los ácidos grasos poliinsaturados sin protección repercuten en mayor grado en la caída de las poblaciones de bacterias fibrolíticas (Wachira *et al.*, 2000); en segundo lugar, los niveles de inclusión del aceite en la dieta, es decir, niveles elevados de aceites (vegetales y/o de pescado) en la dieta alteran la cinética de fermentación ruminal (Shingfield *et al.*, 2008 ) y tercero, el forraje en la dieta, una dieta rica en concentrados disminuyen el pH del medio, afectando de manera directa las poblaciones de bacterias fibrolíticas como el

*Butyrivibrio fibrisolvens*. Sin embargo, en el presente estudio, dado que la dieta empleada era concentrada (80% de granos), es probable que la digestibilidad de la dieta se viera afectada en mayor grado por el porcentaje de fibra, que por el nivel de inclusión de CLAp, cumpliéndose únicamente la tercera condición. Este escenario indica que el CLAp no afecta la digestión ruminal de la fibra aun empleando dietas concentradas.

**Cuadro 7. Desaparición de fibra detergente neutra y fibra detergente ácida a diferentes tiempos de incubación.**

Tratamiento	Horario de incubación (horas)					
	3	6	9	12	24	48
<b>FDN</b>						
<b>Sin CLA</b>	37.80	42.57	41.06	39.17	35.61	37.33
<b>CLA25</b>	35.28	43.35	39.68	37.69	33.04	37.11
<b>CLA50</b>	43.10	42.86	38.85	39.20	42.58	34.47
<b>CLA75</b>	35.43	45.79	40.19	38.12	33.24	35.27
<b>P</b>	0.535	0.190	0.719	0.96	0.248	0.59
<b>EEM*</b>	2.07	0.58	0.66	1.125	1.999	0.845
<b>FDA</b>						
<b>Sin CLA</b>	13.92	17.47	14.91	14.65	12.99	14.12
<b>CLA25</b>	13.11	16.79	15.54	12.77	12.74	14.24
<b>CLA50</b>	11.99	17.60	14.09	12.88	21.83	12.96
<b>CLA75</b>	16.53	18.38	14.09	13.07	12.07	13.69
<b>P</b>	0.658	0.849	0.546	0.438	0.248	0.635
<b>EEM*</b>	1.27	0.60	0.40	0.45	1.96	0.37

\*Error estándar de la media. No hay diferencias significativas ( $P>0.05$ ).

## **2.6 CONCLUSIÓN**

La inclusión de diferentes niveles de ácido linoleico conjugado protegido en dietas altas en grano para borregos Pelibuey, no afecta la fermentación ruminal, incluso con los niveles más altos. Por lo tanto, el CLA protegido puede ser incluido en la dieta de borregos Pelibuey sin alterar la digestibilidad ruminal y así poder incrementar las concentraciones de CLA que pasan a tracto posterior para ser absorbida y de esta manera incrementar la concentración del mismo en la carne.

## 2.7 LITERATURA CITADA

- Alizadeh, A. R., Ghorbani, G. R., Alikhani, M. Rahmani, H. R., Nikkhah, A. 2010. Safflower sedes in corn silage and alfalfa hay based early lactation diets: A practice within an optimum forage choice. *Anim. Feed Sci. Technol.* 155: 18 – 24.
- Badinga, L., K.T. Selberg, A.C. Dinges, C.W. Comer, and R.D. Miles. 2003. Dietary conjugated linoleic acid alters hepatic lipids content and fatty acid composition in broilers chickens. *Poultry Sci.* 82: 111 – 116.
- Bauman, D.E., L.H. Baumgard, B.A. Corl and J.M. Griinari. 2000. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proc. Am. Soc. Anim. Sci.* 1999.
- Beauchemin, K.A., McGinn, S.M., Petit, H.V. 2007. Methane abatement strategies for cattle: lipid supplementation of diets. *Can. J. Anim. Sci.* 87: 431 – 440.
- Bontempo, V., D. Sciannimanico, G. Pastorelli, R. Rossi, F. Rosi, and Carlo Corino. 2004. Dietary conjugated linoleic acid positively affects immunologic variables in lactating sows and piglets. *J. Nutr.* 134: 817 – 824.
- Church, C.D., W.G. Pond, and K.R. Pond. 2003. *Fundamentos de nutrición y alimentación de animals.* Editorial Limusa Wiley. México. pp. 253 – 258.
- de Veth, M.J., S.K. Gulati, N.D. Lichini, and D.E. Bauman. 2005. Comparison of calcium salts and formaldehyde-protected conjugated linoleic acid in inducing milk fat depression. *J. Dairy Sci.* 88: 1685 – 1693.

- Doreau, M., and Y. Chilliard. 1997. Effects of ruminal or postruminal fish oil. *Reprod. Nutr. Dev.* 37: 113 – 124.
- Field, C.J., and P.D. Schley. 2004. Evidence for potential mechanisms for the effect of conjugated linoleic acid on tumor metabolism and immune function: lessons from n-3 fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.* 79: 1190S - 1198S.
- Fievez, V., Dohme, F., Daneels, M., Raes, K., Demeyer, D. 2003. Fish oils as potent rumen methane inhibitors and associated effects on rumen fermentation in vitro and in vivo. *Anim. Feed Sci. Technol.* 104: 41 – 58.
- Fondevila, M., J. M. C. Nogueira-Filho, and A. Barrios-Urdaneta. 2002. In vitro microbial fermentation and protein utilisation of torpical forage legumes grown during the dry season. *Anim. Feed Sci. Technol.* 95: 1 – 14.
- Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Mantecón, A.R., Juárez, M., de la Fuente, M.A., Hervás, G. 2008. Milk production, conjugated linoleic acid content, and in vitro ruminal fermentation in response to high levels of soybean oil in dairy ewe diet. *J. Dairy Sci.* 91: 1560 – 1569.
- Gonthier, C. Mustafa, A. F., Benthiaume, R., Petit, H. V. 2004. Effects of feeding micronized and extruded flaxseed on ruminal fermentation and nutrient utilization by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 1854 – 1863.
- Harfoot, C.G., Hazlewood, G.P., 1997. Lipid metabolism in the rumen. In: Hobson, P.N., Stewart, C.S. (Eds.), *The Rumen Microbial Ecosystem*. Chapman & Hall, London, UK, pp. 382 – 426.

- Hargrave, K.M., B.J. Meyer, C. Li, M.J. Azain, C.A. Baile, and J.L. Miner. 2004. Influence of dietary conjugated linoleic acid and fat source on body fat and apoptosis in mice. *Obesity Research*. 12: 1435 – 1444.
- Herrera, P. J. 2013. Digestibilidad in vitro de dietas energéticas para ovinos con inclusión de semilla de girasol. Tesis. Colegio de Postgraduados. 57 pp.
- Hoover, W. H., and T. K. Miller. 1991. Rumen digestive physiology and microbial ecology. *Food Anim. Practice*. 7: 311 – 325.
- Illey, J., and Terry R. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. British Grassl. Soc.* 18: 104.
- Ip, C., S.F. Chin, J.A. Scimeca, and M.W. Pariza. 1991. Mammary cancer preventive by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Research*. 51: 6118 – 6124.
- Keady, T. W. J., and C. S. Mayne. 1999. The effects of level of fish oil inclusion in the diet on rumen digestion and fermentation parameters in cattle offered grass silage based diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 81: 57 – 68.
- Lawson, R.E., Moss, A.R., Givens, D.I. 2001. The role of dairy products in supplying conjugated linoleic acid to man's diet: a review. *Nutr. Res. Rev.* 14: 153 – 172.
- Lee, M.R.F., Tweed, J.K.S., Moloney, A.P., Scollan, N.D. 2005. The effects of fish oil supplementation on rumen metabolism and the biohydrogenation of unsaturated fatty acids in beef steers given diets containing sunflower oil. *Anim. Sci.* 80: 361 – 367.

- Maia, M.R.G., Chaudhary, L.C., Figueres, L., Wallace, R.J. 2007. Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Anton. van Leeuw.* 91: 303 – 314.
- Moon, H.S., H.G. Lee, C.S. Chung, Y.J. Choi, and C.S. Cho. 2008. Physico-chemical modifications of conjugated linoleic acid for ruminal protection and oxidative stability. *Nutrition and Metabolism.* 5: 16.
- Palmquist, D.L., Lock, A.L., Shingfield, K.J., Bauman, D.E., 2005. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. In: Taylor, S.L. (Ed.), *Advances in Food and Nutrition Research*, vol. 50. Elsevier Academic Press, San Diego, CA, pp. 179 – 217.
- Pariza, M.W., Y. Park, and M.E. Cook. 2000. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation. *Society for Experimental Biology and Medicine.* 223: 8 – 13.
- Parodi, P.W. 1997. Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agents. *J. Nutr.* 127: 1055 – 1060.
- Perfield, J.W., A.L. Lock, A.M. Pfeiffer, and D.E. Bauman. 2004. Effects of amide-protected and lipid-encapsulated conjugated linoleic acid (CLA) supplements on milk fat synthesis. *J. Dairy Sci.* 87: 3010 – 3016.
- Rodríguez, Y., B. Chongo, O. La O, A. Oramas, I. Scull y G. Achang. 2004. Características químicas de *Albizia lebbek* y determinación de su potencial nutritivo mediante la técnica de producción de gas in vitro. *Rev. Cubana Cienc. Agric.* 39: 313.

- SAS Institute. 1999. SAS User's Guide: Statistics. 8th ed. Sas Inst. Inc., Cary, NC, USA.
- Shingfield, K.J., Ahvenjärvi, S., Toivonen, V., Vanhatalo, A., Huhtanen, P., Grünari, J.M.,  
2008. Effect of incremental levels of sunflower-seed oil in the diet on ruminal lipid  
metabolism in lactating cows. *Br. J. Nutr.* 99: 971 – 983.
- Sinclair, L.A., Cooper, S.L., Chikunya, S., Wilkinson, R.G., Hallett, K.G., Enser, M., Wood,  
J.D. 2005. Biohydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acids in the rumen and  
their effects on microbial metabolism and plasma fatty acid concentrations in sheep.  
*Anim. Sci.* 81: 239 – 248.
- Steel, R. G. D., y J. H. Torrie. 1996. Bioestadística: principios y procedimientos. Segunda  
edición. McGraw-Hill. México, D. F. 622 pp.
- Toral, P.G., A. Belenguer, P. Frutos, and G. Hervás. 2008. Effect of the upplementation of  
a high-concentrate diet with sunflower and fish oils on ruminal fermentation in sheep.  
*Small Ruminant Research.* 81: 119 – 125.
- Ueda, K., A. Ferlay, J. Chabrot, J. J. Lóor, Y. Chilliard, M. Doreau. 2003. Effect of linseed  
oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different  
forage:concentrate ratios. *J. Dairy Sci.* 86: 3999 – 4007.
- Van Soest, P.J., 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant, 2nd ed. Cornell University  
Press, Ithaca, NY, USA.

- Wachira, A.M., L. A. Sinclair, R. G. Wilkinson, K. Hallet, M. Enser, J. D. Wood. 2000. Rumen biohydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acids and their effects on microbial efficiency and nutrient digestibility in sheep. *J. Agric. Sci.* 135: 419 – 428.
- Weatherburn, M. W. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Anal. Chem.* 39: 971 – 974.
- Yang, H., J. Holcroft, B.W. Clickman, and J.G. de Boer. 2003. Conjugated linoleic acid inhibits mutagenesis by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine in the prostate of Big Blue® rats. *Mutagenesis.* 18: 195 – 200.
- Zhang, C.M., Guo, Y.Q., Yuan, Z.P., Wu, Y.M., Wang, J.K., Liu, J.X., Zhu, W.Y. 2008. Effect of octadeca carbon fatty acids on microbial fermentation, methanogenesis and microbial flora in vitro. *Anim. Feed Sci. Technol.* 146: 259 – 269.

## **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES**

La inclusión de diferentes niveles de CLA protegido en la dieta de borregos Pelibuey no modificó, en general, los parámetros productivos, tampoco el espesor de la grasa dorsal. Sin embargo, la grasa dorsal tuvo cierta tendencia a disminuir en un 5.4% con el nivel más alto de inclusión de CLAp. En el mismo sentido, la conversión alimenticia, aunque las diferencias no fueron significativas, con el hecho de disminuir de 5.1% sin CLAp contra 4.4% con el nivel más alto de CLAp, sugiere la posibilidad de incluir un nivel más elevado de CLAp en la dieta de los borregos, y de esa manera, posiblemente obtener efectos positivos más evidentes con respecto a los parámetros estudiados. Desde un punto de vista económico, con estas reducciones en la conversión alimenticia, a pequeña escala los beneficios no serían perceptibles pero en condiciones intensivas, a mayor escala, esta pequeña disminución representaría beneficios económicos en cuanto a disminuir las cantidades de insumos empleados en la alimentación de los animales.

Es necesario llevar a cabo más investigación para obtener resultados que justifiquen el bajo o nulo efecto de los isómeros del CLA en la deposición de grasa corporal, masa muscular y respuesta productiva en los rumiantes, debido a que la mayoría de los trabajos solo se limitan a los efectos inmediatos del CLAp pero no se ha explorado en los mecanismos bioquímicos que limitan el efecto del CLA en las características fisiológicas del rumiante. Aunado a esto, punto clave en el uso de CLAp es el nivel y tipo de protección que ofrecen los diferentes métodos de encapsulado. Los resultados variables se atribuyen en gran parte a esto, por lo que de igual manera se requiere llevar a cabo más investigación que proponga alternativas viables para la protección efectiva de los isómeros de CLA contra la biohidrogenación ruminal. Las interacciones del CLAp con los demás componentes de la

dieta durante la digestión ruminal *in vitro* no se ha estudiado extensamente, los resultados han sido variables ya que la mayor parte de los reportes se limitan en estudios *in vitro* a nivel ruminal pero sin tomar en consideración los efectos en la absorción y metabolismo posterior.

## ANEXO 1

### Componentes del medio de cultivo empleados para la digestibilidad *in vitro*.

<b>Solución buffer</b>	
Agua destilada (H <sub>2</sub> O)	1917.29 mL
Bicarbonato de amonio (NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> )	7.67 g
Bicarbonato de sodio(NaHCO <sub>3</sub> )	67.11 g
<b>Solución de macromineral</b>	
Agua destilada (H <sub>2</sub> O)	1917.29 mL
Fosfato de sodio dibásico (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	10.93 g
Fosfato de potasio monobásico (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	11.89 g
Sulfato de magnesio heptahidratado (MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O)	1.15 g
<b>Solución de microminerales</b>	
Agua destilada (H <sub>2</sub> O)	500 mL
Cloruro de calcio dihidratado (CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O)	66.00 g
Cloruro de magnesio tetrahidratado (MnCl. 4H <sub>2</sub> O) 10 g	50.00 g
Cloruro de cobalto hexahidratado (CoCl. 6H <sub>2</sub> O)	5.00 g
Cloruro férrico (FeCl <sub>3</sub> )	40.00 g
<b>Indicador de óxido-reducción</b>	
Resarzurina	0.20 g
Agua destilada	200 mL
<b>Solución reductora</b>	
Agua destilada (H <sub>2</sub> O)	384 mL
Sulfato de sodio anhidros (Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	2.19 g
Hidróxido de sodio 0.1 N (NaOH)	15.36 ml
Líquido ruminal	3,840 mL
Agua destilada (H <sub>2</sub> O)	3,840 mL