

Perfil de ácidos grasos lácteos en vacas lecheras postparto alimentadas con soiling o ensilaje de alfalfa bajo sistema de confinamiento

Milk fatty acids profile and metabolic indicators in postpartum dairy cattle fed with soiling or alfalfa silage under confinement system

M Nahum^{a*}, M Marín^b, C Ríos^c, P Meléndez^d

^aFacultad de Recursos Naturales y Ciencias Silvoagropecuarias, Universidad Iberoamericana de Ciencias y Tecnología, Santiago, Chile.

^bEscuela de Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás, Viña del Mar, Chile.

^cDirección Académica, Universidad Santo Tomás, Los Ángeles, Chile.

^dCollege of Veterinary Medicine, University of Missouri, Columbia, MO, USA.

SUMMARY

The aim of this study was to determine differences between milk fatty acids (FA) profiles in postpartum dairy cows fed alfalfa soiling or alfalfa silage under confinement. Two groups of 20 cows each were selected randomly from a commercial dairy farm. Feed were analyzed for nutritional content using wet chemistry. Blood samples were taken on days 0, 7, 14 and 21 postpartum to determine beta-hydroxybutyrate (BHB) and non-esterified fatty acids (NEFA) concentrations. Individual milk samples were obtained on day 21 postpartum to determine the FA profile. Milk tank was also sampled on day 21. Analysis of variance for repeated measures was performed using SAS 9.2[®]. In individual milk samples, silage group had higher concentrations ($P < 0.05$) of C14:1, C16:1 and C18:3 FA. Contrary, soiling group had a higher concentration of C18:1 FA. In milk bulk tank samples, silage group had higher concentration of C18:3 FA ($P < 0.05$). C10:0, C12:0, C14:0 and C18:1 FA had a direct association ($P < 0.05$) with parity and C14:1, C16:1 and C18:3 FA had a direct association with the use of alfalfa silage. Multiparous and silage group had the highest concentrations ($P < 0.05$) of polyunsaturated FA in milk. NEFA levels were lower ($P < 0.05$) at day 7 and BHB ($P < 0.05$) at days 7, 14 and 21 postpartum in soiling group. It is concluded that parity number and type of feeding system are related to content and profile of milk FA and energy-related blood metabolites.

Key words: BHB, NEFA, fatty acids, milk.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar si existían diferencias entre el perfil de ácidos grasos en leche en vacas lecheras en postparto alimentadas con soiling o ensilaje de alfalfa, en confinamiento. Se utilizaron 2 grupos de 20 vacas. Se analizaron los alimentos y se tomaron muestras de sangre (días 0, 7, 14 y 21) postparto para determinar BHB y AGNE. El día 21 se muestreó leche de cada vaca para determinar el perfil lipídico de la misma y también del estanco de leche. Se hicieron análisis de varianza y de medidas repetidas utilizando el programa SAS[®] (2003). La leche del grupo ensilaje tuvo mayores concentraciones ($P < 0,05$) de C14:1, C16:1 y C18:3 y el grupo soiling de C18:1. En la leche del estanco hubo mayor concentración de C18:3 en el grupo que consumía ensilaje de alfalfa. Los ácidos C10:0, C12:0, C14:0 y C18:1 tuvieron asociación positiva ($P < 0,05$) con el número de parto y los ácidos C14:1, C16:1 y C18:3 con el consumo de ensilaje. Las multíparas y las que consumían ensilaje de alfalfa tuvieron mayores concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados en leche ($P < 0,05$). Hubo menores niveles de AGNE ($P < 0,05$) al día 7 y de BHB ($P < 0,05$) los días 7, 14 y 21 en aquellos que consumían soiling de alfalfa. No hubo asociación entre los valores de AGNE y BHB al parto y postparto temprano con el perfil de ácidos grasos en leche en ambos grupos.

Palabras clave: BHB, AGNE, ácidos grasos, leche.

INTRODUCCIÓN

La grasa láctea está compuesta por más de 400 tipos de ácidos grasos, la mayoría originándose como intermediarios durante el metabolismo de los lípidos por la flora ruminal. El porcentaje de grasa láctea depende de la raza, nutrición y etapa de lactancia (Bauman y Lock 2010).

En la leche, la mayoría de los ácidos grasos de 16 carbonos y los de mayor longitud derivan de la captación mamaria de ácidos de cadena larga provenientes de la absorción intestinal y la movilización de reservas corporales. Se estima que un 50% de los ácidos grasos de la leche son sintetizados por la glándula mamaria *in situ* y el resto proviene de la absorción digestiva, aunque esto depende del estado fisiológico del animal (Bauman y Griinari 2003).

La captación de ácidos grasos no esterificados (AGNE) por la glándula mamaria hace que el contenido graso de la leche sea más elevado tras el parto; en estos momentos la lipomovilización debido al balance energético negativo

Acceptado: 15.07.2015.

* Padre Miguel de Olivares 1620, Santiago, Chile; mariano.nahum@uibero.cl

(BEN) es intensa, pero irá disminuyendo progresivamente al avanzar la lactancia, no solo por efecto dilución, sino que también por un descenso en la grasa de reserva movilizada (Chilliard y col 2000). Estos AGNE son movilizados unidos a albúmina sérica y transportados a diferentes tejidos (Roche y col 2009).

Los ácidos linoleico (C18:2 omega 6) y linolénico (C18:3 omega 3) son los ácidos principales en la dieta de los rumiantes y de su biohidrogenación resulta en la formación de ácido esteárico (C18:0), siendo el más abundante en abandonar el rumen y el más absorbido a nivel intestinal (Bauman y Lock 2010).

El ácido linoleico conjugado (ALC) es un ácido omega 6 con isomería *trans*. Del total de 17 isómeros de este ácido, el ácido ruménico (C18:2 *cis* 9-*trans* 11) es el más común y representa más del 80% de los isómeros de este en los productos lácteos (Jensen y col 1998). Tiene efectos beneficiosos para la salud humana (hipocolesterolémico, antiaterogénico, inmunoestimulante, protección contra cierto tipo de cánceres, antioxidante y reducción del peso corporal) (Sanhueza y col 2002, Obregón y Valenzuela 2009).

Existen varios factores que modifican la cantidad de ALC en leche. Uno tiene que ver con la madurez y conservación del forraje usado en la formulación de la dieta, ya que el uso de forrajes inmaduros hace que los niveles de ALC aumenten y la conservación de forrajes como heno disminuye la proporción de ácido linolénico y de ácidos grasos totales en el pasto (Dhiman y col 2005).

Las pasturas y praderas son ricas en ácido linolénico. Respecto de los ensilajes, el de maíz es rico en ácido linoleico y el de pradera en ácido linolénico. El heno de alfalfa tiene altas concentraciones de ácido linolénico pero otros ácidos grasos son oxidados durante el proceso de secado (Dhiman y col 2005).

El BEN que se produce durante el periparto en vacas lecheras predispone a la aparición de enfermedades metabólicas como la cetosis. Esta afecta el metabolismo de las grasas e hidratos de carbono y puede diagnosticarse midiendo los niveles de cuerpos cetónicos como β -hidroxibutirato (BHB) en sangre. La movilización de grasa corporal y el consecuente aumento de los AGNE en sangre también es una herramienta útil para evaluar el balance energético de un animal. La acumulación hepática elevada de triglicéridos desarrollará un cuadro de hígado graso en el animal (Grummer 1993, Meléndez y col 2002, Marín y col 2010, Van Saun 2010).

En Canadá, Leblanc (2010) indica que concentraciones de AGNE $\geq 0,4$ mmol/l una semana antes del parto se pueden correlacionar con un aumento del riesgo de hasta 4 veces para desplazamiento abomasal izquierdo (DAI), 2 veces mayor riesgo para retención de membranas fetales (RMF), 2 veces mayor riesgo de ser eliminadas antes de los 60 días en leche y 1,1 kg/día menos de leche en los primeros 4 meses de lactancia. El valor más alto de AGNE se produce al parto, con una lenta declinación que empieza a los 3 días postparto (Meléndez y col 2002).

Antes del parto los valores de BHB suelen estar entre 0,5 y 0,7 mmol/l, a menos de que el animal ya se encuentre en balance energético negativo o consumiendo ensilaje de mala calidad; cuando dicha concentración es $\geq 1,4$ mmol/l representa un claro signo de cetosis subclínica aunque la respuesta animal es variable (Leblanc 2010). Estos animales tienen hasta 8 veces más posibilidades de desarrollar un DAI, 3 veces más riesgo de contraer metritis y aumento de la duración y severidad de los cuadros de mastitis, aunque no de la incidencia de ellas (Suriyasathaporn y col 2000, Duffield y col 2009).

El objetivo de este trabajo fue determinar si existían diferencias entre el perfil de ácidos grasos de la leche en vacas lecheras postparto con distinta alimentación. La hipótesis fue que las vacas que consumían soiling de alfalfa en la dieta producían mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados en la leche en relación con su reemplazo por ensilaje de alfalfa, niveles que se verían disminuidos con valores aumentados de AGNE y BHB.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron en el estudio 40 vacas Holstein de un predio lechero en la zona central de Chile, con sistema productivo intensivo y partos todo el año. La producción promedio, con 3 ordeñas diarias, era de 38 litros/vaca/día (11.000-12.000 litros/por lactancia). La alimentación se basaba en heno de alfalfa, concentrados, ensilaje de maíz y soiling de alfalfa o ensilaje de alfalfa según grupo. La ración se entregaba totalmente mezclada (RTM) utilizando carros forrajeros mezcladores.

El tamaño muestral, basándose en una diferencia de 1,1 gramo \pm 1 gramo de ácido oleico por litro de leche entre las vacas alimentadas con soiling o ensilaje de alfalfa fue calculado usando el software Win episcope[®] (2001), considerando un nivel de confianza del 95% y un poder del test estadístico del 80%. Las vacas fueron seleccionadas al azar al momento del parto, registrándose su número de identificación, número ordinal de parto (NOP), producción láctea acumulada a los 30 días, condición corporal al parto y a los 30 días de este, utilizando la escala de 1 a 5 propuesta por Ferguson y col (1994).

Se formaron 2 grupos de 20 vacas cada uno: el primero alimentado con heno de alfalfa, concentrados, ensilaje de maíz y soiling de alfalfa (Grupo soiling) y el segundo grupo con ensilaje de alfalfa en lugar del soiling (Grupo ensilaje).

Estos insumos fueron muestreados para su análisis químico proximal completo (AQP) y análisis de paredes celulares según Van Soest y col (1991) los días 0, 10 y 21 postparto correspondiente al primer animal ingresado a cada grupo experimental. Los resultados promedios de cada componente se muestran en el cuadro 1. También se analizaron los ácidos grasos libres presentes en los mismos y en ambas raciones completas.

Las raciones de los individuos experimentales fueron formuladas sobre la base del programa CPM Dairy[®]

Cuadro 1. Análisis químico proximal y de los componentes de la pared celular de los distintos componentes de ambas raciones.
Cell wall and wet chemistry analysis of forages and TMR of both groups.

	Grupo soiling				Grupo ensilaje			
	heno	soiling alfalfa	ensilaje maíz	RTM	heno	ensilaje alfalfa	ensilaje maíz	RTM
% ceniza	10,2	18,3	8,2	8,1	10,9	14,6	7,4	11,6
% PC	17,6	23,4	10,4	17,2	16,9	20,1	7,1	16,3
% EE	1,1	1,4	2,6	3,3	1,0	1,8	2,0	2,3
% FC	28,1	21,5	23,5	18,6	27,0	23,6	20,8	17,8
% FDN	38,4	29,4	49,1	37,2	40,9	33,2	43,7	41,9
% FDA	37,2	24,5	30,4	23,4	27,2	32,6	21,9	17,6

Nota: PC= proteína cruda, EE= extracto etéreo, FC= fibra cruda, FDN= fibra detergente neutro, FDA= fibra detergente ácido, RTM: ración completa.

(University of Pennsylvania, Cornell University and Miner Institute), tomando como referencia a una vaca de segunda lactancia con 65 días en leche, 620 Kg de peso corporal, peak de producción de 52 litros/día, 3,5% de grasa láctea, 3,2% de proteína cruda y una condición corporal de 2,75.

Las raciones fueron similares en cuanto a la composición de macronutrientes: forrajes 50%, proteína cruda (PC) 16% (proteína bypass 45%, proteína degradable 55%), energía metabolizable (EM) 2,6 MCal/kg, fibra detergente ácido (FDA) 20%, fibra detergente neutro (FDN) 32%, carbohidratos no fibrosos 44% y extracto etéreo 4,2%. Las dietas contenían 7 Kg (tal como ofrecido) de soiling de alfalfa o ensilaje de alfalfa según grupo.

Se extrajo sangre de todas las vacas de la vena coccígea, en tubos Vacutainer® sin anticoagulante, los días 0, 7, 14 y 21. Los sueros fueron congelados a -20°C en tubos Eppendorf hasta que las pruebas de laboratorio se llevaron a cabo.

En el suero se midieron la concentración de AGNE (día 0 y 7) y la de BHB (días 7, 14 y 21). Se utilizaron los reactivos Randox® NEFA y Randox® Ranbut (Randox Laboratories Ltd.; Ardmore, Diamond Road, Crumlin, Co. Antrim; UK) y el equipo Microlab® 200 (Merck). Los resultados fueron expresados en mmol/litro de acuerdo con la calibración del equipo con los estándares aportados por el fabricante.

Además, de cada vaca se recolectaron 200 cc de leche de una muestra compuesta de los 4 cuartos el día 21 para obtener información del perfil de ácidos grasos libres. El día que se tomó la muestra de leche de la primera vaca de cada grupo también se tomaron muestras del estanco de leche. Esto para obtener un perfil de ácidos grasos del pool de vacas en lactancia, independientemente de la etapa de lactancia en que se encontraban los animales.

Las muestras fueron congeladas a -20°C hasta su análisis. A ellas se les realizó la extracción de grasa mediante el método de Bligh y Dyer (1959) y luego un análisis cromatográfico del perfil de ácidos grasos libres con un cromatógrafo de Gases-Masas (Shimadzu®,

modelo QP5050A, GCMS-QP2010 Ultracombination, con columnas GC sp2380). Los resultados se expresaron como porcentaje relativo de cada ácido graso presente en el cromatograma, según su tiempo de retención, de acuerdo con la identificación realizada con los estándares puros.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de BHB se utilizó un modelo de medidas repetidas (Mixed Procedure). La variable dependiente fue el BHB y el modelo consideró grupo, día y grupo x día, además de número ordinal de partos (NOP) y condición corporal al parto. Respecto del NOP se las agrupó en primíparas (1 parto) o múltiparas (≥ 2 partos). Para el análisis de AGNE se utilizó un análisis de varianza y se corrigió por día usando el GLM Procedure. El mismo análisis se utilizó con los resultados de los ácidos grasos en la leche y estanco pero se corrigió por grupo.

Para analizar si hubo asociación entre los indicadores metabólicos y el perfil de ácidos grasos se realizó un análisis de varianza (multivariable) para cada uno de los ácidos grasos, considerando AGNE y BHB y corrigiendo por las otras variables (grupo, NOP, CC al parto, producción de leche al día 21). Para todos los análisis se utilizó el programa estadístico SAS 9.2® (2003).

RESULTADOS

En el cuadro 2 se encuentran los resultados de la comparación entre ambos grupos (soiling y ensilaje) en cuanto al NOP de las vacas y la producción de las mismas al día 21, siendo este valor el único que arrojó diferencias estadísticamente significativa ($P < 0,05$) en favor del Grupo soiling.

En el cuadro 3 se presentan los valores corregidos, expresados como mínimos cuadrados medios (MCM) con su error estándar (EE), rango y valor P de BHB y AGNE para ambos grupos. Todos los valores obtenidos fueron mayores en el Grupo ensilaje, siendo el valor de AGNE al

Cuadro 2. Valores de mediana, media, desvío estándar y error estándar para la producción de leche al día 21 (litros/día) y número ordinal de parto en ambos grupos.

Median, mean, standard deviation and standard error values for milk production at day 21 (liter/day) and parity of both groups.

Estadígrafo	Número ordinal de partos		Producción leche al día 21 (l/día)*	
	Soiling	Ensilaje	Soiling	Ensilaje
Mediana	1,0	1,0	34,09	32,05
Media	1,90	1,85	34,47 ^a	32,2 ^b
DS	1,30	1,27	0,83	1,11
ES	0,29	0,28	0,31	0,42

* Producción leche al día 21: promedio entre los días 18 y 24 postparto.
Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

Cuadro 3. Valores de BHB y AGNE (MCM \pm EE, mmol/l) según grupo y días postparto.

BHB and NEFA concentration (LSM \pm SE, mmol/l) by group and postpartum days.

Variable	Grupo soiling		Grupo ensilaje		Valor P
	MCM \pm EE	Rango	MCM \pm EE	rango	
BHB día 7*	1,00 ^a \pm 0,17	0,27-3,70	1,14 ^b \pm 0,18	0,20-3,76	< 0,0001
BHB día 14*	0,57 ^a \pm 0,19	0,25-1,70	0,88 ^b \pm 0,17	0,23-3,27	0,0032
BHB día 21*	0,48 ^a \pm 0,18	0,23-1,40	0,81 ^b \pm 0,17	0,12-4,42	0,0079
AGNE día 0	0,96 \pm 0,54	0,52-1,60	1,02 \pm 0,54	0,10-2,84	0,709
AGNE día 7*	0,76 ^a \pm 0,47	0,19-1,90	1,10 ^b \pm 0,47	0,10-2,57	0,032

($P < 0,05$).

MCM = mínimos cuadrados medios, EE= error estándar, LSM= least square means, SE: standard error.

*Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas.

Cuadro 4. Principales ácidos grasos presentes en insumos y ambas RTM, expresados como porcentaje del total de ácidos grasos presentes.

Main fatty acids present in inputs and both TMR, expressed as percentage of total fatty acids present

	Ácido Palmítico (C16:0)	Ácido Esteárico (C18:0)	Ácido Oleico (C18:1)	Ácido Linoleico (C18:2)	Ácido Linolénico (C18:3)
Soiling alfalfa	17,62	3,10	17,79	41,36	10,01
Ensilaje maíz	17,50	3,47	21,52	43,65	6,87
Ensilaje alfalfa	17,66	3,66	3,55	17,33	28,13
Heno alfalfa	18,80	3,90	14,64	33,24	13,59
RTM soiling	16,86	4,06	24,08	40,40	6,48
RTM ensilaje	21,24	4,57	18,85	38,73	5,77

día 0 el único que no arrojó diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) entre grupos.

En el cuadro 4 se presentan, en porcentaje, los valores de los principales ácidos grasos del soiling de alfalfa, ensilaje de alfalfa, heno de alfalfa, ensilaje de maíz, RTM Grupo soiling y RTM Grupo ensilaje, entregados por el laboratorio de análisis de alimentos. Para todos ellos, excepto para el ensilaje de alfalfa, el de mayor presencia fue el ácido linoleico (C 18:2). Para el ensilaje de alfalfa

el principal ácido encontrado fue el linolénico (C 18:3) con casi 30% del total.

Respecto del análisis de los ácidos grasos presentes en la leche de los animales muestreados en ambos grupos, se encontraron mayores valores de los ácidos miristoleico (C 14:1), palmitoleico (C 16:1) y linolénico (C 18:3) en el Grupo ensilaje y del ácido oleico (C 18:1) en el Grupo soiling. En la leche de estanque hubo diferencias solo para el ácido linolénico (C 18:3), siendo mayor en el

Grupo ensilaje (cuadro 5). Los valores se expresan como porcentaje del total de ácidos grasos.

Se agruparon los ácidos grasos en saturados, monoinsaturados y poliinsaturados y se analizó la influencia del NOP (primípara o múltiparas) y del grupo de pertinencia (soiling o ensilaje) en las cantidades encontradas. Los resultados indicaron que las vacas múltiparas tuvieron mayor cantidad de ácidos grasos saturados y poliinsaturados que las vacas primíparas ($P < 0,05$). Los ácidos grasos monoinsaturados fueron más frecuentes en las vacas primíparas, pero sin diferencias significativas. En cuanto al grupo, el Grupo ensilaje tuvo mayores concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados en leche ($P < 0,05$), no habiendo diferencias en los ácidos grasos saturados y

monoinsaturados entre grupos (cuadro 6). Los valores se expresan como porcentaje del total de ácidos grasos.

Respecto de la asociación entre los distintos ácidos grasos y las demás variables (grupo, condición corporal al parto, NOP, AGNE día 0, AGNE día 7, BHB día 21 y leche día 21) se agruparon los valores del mismo ácido graso de ambos grupos y se lo enfrentó a las otras variables. Los resultados muestran una asociación positiva del NOP con los ácidos grasos cáprico (C10:0), láurico (C 12:0), mirístico (C 14:0) y oleico (C 18:1) ($P < 0,05$), es decir, a medida que aumenta la cantidad de partos, aumenta también su concentración en leche. Los ácidos grasos miristoleico (C 14:1), palmitoleico (C 16:1) y linoléico (C 18:3) indican asociación positiva con el Grupo ensilaje

Cuadro 5. Valores promedio (%) de los distintos ácidos grasos en leche y leche de estanque para ambos grupos.

Average concentration (%) at cow level milk fatty acids and bulk tank milk for both group.

Ac. graso*	Leche				Leche estanque			
	Grupo	Grupo	EE	valor P	Grupo	Grupo	EE	valor P
	soiling	ensilaje			soiling	ensilaje		
C 4:0	2,80	3,64	1,83	0,18	2,98	3,60	1,30	0,68
C 6:0	2,38	2,34	0,64	0,87	2,83	2,63	0,38	0,64
C 8:0	1,45	1,59	0,52	0,44	1,77	1,78	0,05	0,86
C 10:0	2,84	2,94	0,72	0,67	3,59	3,12	0,38	0,34
C 12:0	2,77	3,07	0,74	0,23	3,83	3,22	0,52	0,36
C 14:0	8,76	9,01	1,41	0,60	11,36	9,86	1,10	0,31
C 14:1	0,72 ^a	1,08 ^b	0,22	< 0,0001	1,00	1,25	0,22	0,37
C 15:0	1,04	1,10	0,23	0,42	1,33	1,04	0,16	0,21
C 16:0	25,22	25,62	2,03	0,56	26,24	27,21	0,46	0,17
C 16:1	1,63 ^a	2,03 ^b	0,59	0,05	1,46	1,77	0,29	0,40
C 17: 0	0,93	0,94	0,16	0,92	0,71	0,71	0,10	1,00
C 17: 1	0,43	0,50	0,09	0,06	0,17	0,15	0,17	0,42
C18:0	14,92	14,09	1,62	0,13	12,51	12,80	0,33	0,47
C 18:1	27,73 ^a	25,54 ^b	2,99	0,03	23,93	23,81	0,68	0,88
C 18:2	3,61	3,64	0,62	0,84	3,59	4,57	0,96	0,10
C 18:3	0,39 ^a	0,54 ^b	0,07	< 0,0001	0,30 ^a	0,58 ^b	0,05	0,04

EE= error estándar.

*Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

Cuadro 6. Promedios de ácidos grasos saturados (%), monoinsaturados y poliinsaturados en leche según número de partos (NOP) y Grupo.

Mean of saturated, monounsaturated and polyunsaturated milk fatty acids by parity and Group.

Ácidos grasos*	Número de partos			Grupo			
	Primíparas	Múltiparas	valor P	Soiling	Ensilaje	EE	Valor P
Saturados	62,48 ^a	65,08 ^b	0,046	63,39	64,17	3,29	0,475
Mono insaturados	31,46	27,88	0,0053	30,45	28,89	3,16	0,143
Poliinsaturados	3,82 ^a	4,66 ^b	0,0047	3,98 ^a	4,50 ^b	0,72	0,038

EE= error estándar.

*Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

($P < 0,05$), lo que significa que aumenta cuando los animales ingieren ensilaje de alfalfa (cuadro 7).

DISCUSIÓN

Este estudio fue realizado bajo condiciones de campo en una lechería de la zona central del país, por lo tanto se reconoce que hubo muchas variables que se pudieron haber asociado a los resultados obtenidos, pero que lamentablemente no se pudieron controlar, debido al carácter comercial del rebaño en estudio. A pesar de esta deficiencia involuntaria en el diseño del estudio de todas formas se pudieron observar diferencias interesantes de analizar.

Respecto del análisis químico de los alimentos analizados en este trabajo, las RTM presentan valores congruentes con raciones ricas en concentrado y un alto aporte de voluminosos, siendo los valores de la ración con ensilaje de alfalfa la que tiene valores un poco más elevados de FDN e inferiores de FDA, que podría incidir en una mayor digestibilidad de ésta.

Respecto de la concentración de BHB (cuadro 3) los valores promedio en ambos grupos para todos los días no sobrepasaron el nivel máximo postulado por Duffield y col (2009) y Wittwer (2012) que definen la hipercetonemia como el aumento de BHB por encima de 1,2 mmol/l. Para Oetzel (2007) se necesitan 1,4 mmol/l para tener un cuadro de cetosis subclínica, pero en el presente trabajo el mayor valor promedio se obtuvo al día 7 en el grupo alimentado con ensilaje de alfalfa, con un valor de 1,14 mmol/l. No obstante, todo valor $\geq 0,6$ mmol/l de BHB

en vacas en lactancia es indicativo de BEN en el rebaño (Weschenfelder y col 2010).

La cinética del BHB muestra un comportamiento descendente en ambos grupos. El valor máximo se produjo a los 7 días y luego hubo un descenso paulatino pero constante hacia el día 21. Estos datos coinciden con lo expuesto por McArt y col (2013) quien indica que el peak de BHB se alcanza al día 5 postparto y luego comienzan a descender.

Los animales del Grupo soiling perdieron más peso hasta el día 30 que los del Grupo ensilaje (los promedios de CC cayeron de 3,5 a 2,7 vs. 3,5 a 3,1 respectivamente), pero la movilización grasa no se evidencia en los valores obtenidos de BHB y AGNE, ya que fueron menores, demostrando que fueron más eficientes en la movilización grasa hacia producción de leche y no a la formación de BHB como en el grupo que consumía ensilaje de alfalfa. Esto indicaría que los animales del Grupo soiling tuvieron un mejor balance metabólico/energético que los animales del otro grupo (Van Saun 2004, LeBlanc 2010). Tampoco se descarta que el ensilaje de alfalfa haya experimentado algún tipo de fermentación butírica indeseada que haya hecho aumentar el contenido de BHB en sangre a cifras estadísticamente superiores a las encontradas en el grupo alimentado con soiling de alfalfa. Además las vacas del Grupo ensilaje produjeron menos leche que las del Grupo soiling; lo podría explicar, en parte, que hayan perdido menos peso también. Esto coincide con lo publicado por Noro y col (2006) quienes demostraron que los animales con valores elevados de BHB producen menos leche que los que tienen valores normales.

Las concentraciones promedio de AGNE también fueron mayores en el Grupo ensilaje (cuadro 3). Los resultados son cercanos a los que cita Marín y col (2011) donde los valores encontrados al parto fueron de $0,90 \pm 0,47$ mmol/l al parto y a los citados por Drackley y col (2001), quienes en una revisión describen valores al parto de 0,8 a 1,2 mmol/l con un descenso a 0,7 mmol/l a los 7 días postparto.

En nuestro trabajo la concentración de AGNE en el Grupo soiling tuvo un descenso desde el parto al día 7, lo que coincide también con Douglas y col (1998) y Garverick y col (2013) quienes postulan que la mayor concentración de estos se alcanza al parto y que luego estos valores decrecen continuamente hasta el día 21 postparto, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$). En cambio, la concentración de AGNE en el Grupo ensilaje tuvo un comportamiento inverso aumentando desde el día 0 al día 7; lo que concuerda con el trabajo de Contreras y col (2010) quienes hallaron la máxima concentración de AGNE al día 7 postparto, pero en dicha investigación las diferencias entre los valores de AGNE al parto y a los 7 días postparto no son estadísticamente significativos ($P > 0,05$).

El perfil de ácidos grasos de los alimentos indicó que el ácido linoléico (C 18:3) fue el de mayor proporción en el ensilaje de alfalfa (cuadro 4) lo que probablemente influyó en que la leche de los animales pertenecientes a

Cuadro 7. Asociación entre los ácidos grasos y las variables estudiadas.

Association between fatty acids and independent variables.

Ácido graso	Variable	valor P
C 4:0	todas	NS
C 6:0	todas	NS
C 8:0	todas	NS
C 10:0	NOP	0,032*
C 12:0	NOP	0,026*
C 14:0	NOP	0,024*
C 14:1	Grupo	0,0008*
C 15:0	todas	NS
C 16:0	todas	NS
C 16:1	Grupo	0,014*
C 17: 0	NOP	0,075
C 17: 1	Todas	NS
C18:0	CC parto	0,089
C 18:1	NOP	0,012*
C 18:2	NOP	0,057
C 18:3	Grupo	0,0002*

* Valores estadísticamente significativos.
NS= ninguna de las variables tiene valores a $< 0,1$.

ese grupo también tuvieran más ácido linolénico que la leche de los animales alimentados con soiling de alfalfa.

El valor promedio del ácido linolénico en el Grupo soiling fue menor que el propuesto por Jensen y col (1998) tanto en las muestras individuales de leche como en las muestras de estanque de ese grupo (cuadro 5). Autores como Dhiman y col (2005) señalan que las pasturas y praderas son ricas en este ácido graso, lo que no se condice con los resultados encontrados en la presente investigación, ya que se suponía que el Grupo soiling tendría mayores niveles de ácido linolénico que el que consumía ensilaje de alfalfa porque durante los procesos de conservación (fermentación anaeróbica en el caso del ensilaje) se pierden parte de estos ácidos grasos. Los resultados (cuadro 4) indican menores niveles de ácido linolénico en el soiling de alfalfa (10%) que en el ensilaje de alfalfa (28%), lo que contradice a este autor, pero es consecuente con que haya habido una mayor concentración de ácido linolénico en la leche del grupo alimentado con ensilaje de alfalfa. No tenemos explicación para esta discrepancia de mayor contenido de ácido linoleico en el ensilaje de alfalfa que en el soiling de alfalfa.

No hubo registro de medición de niveles del ácido linoleico conjugado (ALC) en el Grupo soiling por lo que no se pudo comparar este ácido entre grupos, pero en el Grupo ensilaje, el valor promedio de ALC fue de 0,46%, muy similar a los $0,47 \pm 0,03\%$ expresados por Morales y col (2010).

Las concentraciones de ácidos grasos saturados e insaturados (monoinsaturados y poliinsaturados) totales encontrados en este trabajo (cuadro 6) no difieren mucho de los encontrados por Morales y col (2011) quienes describen un 67,6% y un 32,4% respectivamente en condiciones de estabulación y alimentación similares a este estudio.

A la luz de los resultados encontrados en la presente investigación, queda de manifiesto que la forma en que se entrega la alfalfa (soiling o ensilaje) se asocia con un perfil diferente de ácidos grasos en la leche. Este estudio, realizado bajo condiciones de campo, en una lechería comercial convencional estabulada de la zona central de Chile, demuestra que el tipo de alimentación puede alterar el contenido de ácidos grasos de la leche y se sugiere que la manipulación de la dieta puede ser una estrategia útil para modificar el contenido y el tipo de grasa que presenta la leche bovina.

REFERENCIAS

- Bauman D, J Griinari. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu Rev Nutr* 23, 203-227.
- Bauman D, A Lock. 2010. Milk fatty acid composition: challenges and opportunities related to human health. *Resúmenes del XXVI Congreso Mundial de Buiatría*, Santiago, Chile.
- Bligh E, W Dyer. 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37, 911-917.
- Chilliard Y, A Ferlay, R Mansbridge, M Doreau. 2000. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids. *Ann Zootech* 49, 181-205.
- Contreras G, N O'Boyle, T Herdt, L Sordillo. 2010. Lipomobilization in periparturient dairy cows influences the composition of plasma nonesterified fatty acids and leukocyte phospholipid fatty acids. *J Dairy Sci* 93, 2508-2516.
- Dhiman T, S Nam, A Ure. 2005. Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. *Crit Rev Food Sci Nutr* 45, 463-482.
- Douglas G, J Drackley, T Overton, H Bateman. 1998. Lipid metabolism and production by Holstein cows fed control or high fat diets at restricted or ad libitum intakes during the dry period. *J Dairy Sci* 81(Suppl. 1), 295.
- Drackley J, V Overton, L Douglas. 2001. Adaptations of glucose and long chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *J Dairy Sci* 84, 100-112.
- Duffield T, K Lissimore, B McBride, K Leslie. 2009. Impact of hyperketonemia in early lactation culling. *J Dairy Sci* 92, 571-580.
- Ferguson J, D Galligan, N Thosen. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J Dairy Sci* 77, 2695-2703.
- Garverick H, M Harris, R Vogel-Bluel, J Sampson, J Bader, W Lamberson, J Spain, M Lucy, R Youngquist. 2013. Concentrations of nonesterified fatty acids and glucose in blood of periparturient dairy cows are indicative of pregnancy success at first insemination. *J Dairy Sci* 96, 181-188.
- Grummer R. 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 76, 3882-3896.
- Jensen R, C Iammi-Keep, D Hill, A Kind, B Henderson. 1998. The anticarcinogenic conjugated fatty acid 9c-11t (18:2) in human milk: Conformation of its presence. *J Human Lact* 14, 23-27.
- LeBlanc S. 2010. Monitoring health of dairy cattle in the transition period. *J Reprod Dev* 56, 29-35.
- Marín M, C Ríos, J Bastías, P Meléndez. 2010. The relationship between BHB and fatty acid composition in milk during early postpartum in Chilean Holstein cattle. *Resúmenes del XXVI Congreso Mundial de Buiatría*, Santiago, Chile.
- Marín M, C Ríos, H Contreras, J Robles, P Meléndez. 2011. Ácidos grasos no esterificados al parto y su relación con producción lechera en vacas Holstein. *Arch Zootech* 60, 257-264.
- McArt J, D Nydam, G Oetzel. 2013. Dry period and parturient predictors of early lactation hyperketonemia in dairy cattle. *J Dairy Sci* 96, 198-209.
- Meléndez P, A Donovan, C Risco, B Hall, R Littell, J Goff. 2002. Metabolic responses of transition cows fed anionic salts and supplemented at calving with calcium and energy. *J Dairy Sci* 85, 108-1092.
- Morales E, A Soldado, A González, A Martínez, I Domínguez, B de la Roza, F Vicente. 2010. Improving the fatty acid profile of dairy cow milk by combining grazing with feeding of total mix ration. *J Dairy Res* 77, 225-230.
- Morales E, B de la Roza, A González, A Soldado, M Rodríguez, M Peláez, F Vicente. 2011. Effect of feeding system on unsaturated fatty acid level in milk of dairy cows. *Renewable Agriculture and Food Systems* 26, 224-229.
- Noro M, V Vargas, R Pulido, F Wittwer. 2006. Efecto del tipo de concentrado sobre indicadores sanguíneos del metabolismo de energía y de proteínas en vacas lecheras en pastoreo primaveral. *Arch Med Vet* 38, 227-232.
- Obregón A, A Valenzuela. 2009. Ácido linoleico conjugado (ALC), metabolismo de lípidos y enfermedad cardiovascular. *Rev Chil Nutr* 36, 258-268.
- Oetzel G. 2007. Herd level ketosis: diagnosis and risk factors. *Resúmenes de la 40ª Conferencia anual de la Asociación Americana de especialistas en Bovinos*, Vancouver, Canadá.
- Roche J, N Friggens, J Kay, M Fisher, K Stafford, D Berry. 2009. Invited review: body condition score and its association with dairy cow productivity, health and welfare. *J Dairy Sci* 92, 5769-5801.
- Sanhueza J, S Nieto, A Valenzuela. 2002. Conjugated linoleic acid: a *trans* isomer fatty acid potentially beneficial. *Rev Chil Nutr* Vol.29, N°2. Versión On-line ISSN 0717-7518.
- SAS Institute Inc. 2003. SAS/STAT User's Guide: Version 9.2. 5th ed. Cary, North Carolina, USA.

- Suriyasathaporn W, C Heuer, E Noordhuizen-Stassen, Y Schukken. 2000. Hyperketonemia and udder defense: a review. *Vet Res* 31, 397-412.
- Thrusfield M, C Ortega, I de Blas, J Noordhuizen, K Frankena. 2001. Win Episcopa 2.0: improved epidemiological software for veterinary medicine. *Vet Rec* 148, 567-572.
- Van Saun R. 2004. Metabolic profiling and health risk in transition cows. *Resúmenes de la 37ª Conferencia Anual de la Asociación Americana de Especialistas en Bovinos*. Texas, USA.
- Van Saun R. 2010. Indicators of dairy transition risks: metabolic profiling revisited. *Resúmenes del XXVI Congreso Mundial de Buiatría*, Santiago, Chile.
- Van Soest P, J Robertson, B Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 74, 3583-3597.
- Weschenfelder F, C Barboza, C Wagemann, H Bohmwald, R Chihauilaf, F Wittwer, M Noro. 2010. Presentación de desbalances energéticos y alteraciones hepáticas en rebaños lecheros de Chile durante 1986-2010. *Resúmenes del XXXV Congreso Sociedad Chilena de Producción Animal*, Coyhaique, Chile. 179-180.
- Wittwer F. 2012. *Manual de Patología Clínica Veterinaria*. Ed. América. Valdivia, Chile.