

# EFFECTO DE LA FRECUENCIA DE ORDEÑO Y DE LA ADMINISTRACIÓN DE VITAMINA E Y SELENIO SOBRE EL PERFIL DE ACIDOS GRASOS DE LA LECHE EN OVEJAS ASSAF

PULIDO, E<sup>1</sup>., ANDRÉS, S<sup>1</sup>., ALONSO, D<sup>1</sup>., FERNÁNDEZ, M<sup>1</sup>., BLANCO, C<sup>1</sup>., PRIETO, N<sup>3</sup>., BODAS, R<sup>2</sup>. Y GIRÁLDEZ, F.J. <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE). Finca Marzanas. 24346 Grulleros, León. <sup>2</sup>Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Ctra. Burgos, km. 119. 47071, Valladolid.

<sup>3</sup>Department of Agricultural, Food and Nutritional Science, University of Alberta, Canada

## RESUMEN

Se utilizaron 16 ovejas de raza assaf para estudiar el efecto de la frecuencia de ordeño y de la administración de un suplemento antioxidante sobre el perfil de ácidos grasos de la leche. Se asignaron 8 animales al tratamiento control y los 8 restantes al tratamiento antioxidante (AOX). Los animales de ambos grupos recibieron a voluntad una ración completa. Los animales del grupo AOX recibieron diariamente, vía oral, 1 g de vitamina E (equivalente a 1000 UI), y 0.4 mg de selenio. El periodo experimental tuvo una duración de 11 semanas distribuidas en dos períodos consecutivos en los cuales se modificó la frecuencia de ordeño. La administración del suplemento antioxidante no influyó en las proporciones de SFA y PUFA. Sin embargo, disminuyó ( $P < 0,05$ ) la proporción de ácidos grasos de menos de 16 átomos de carbono y aumentó las proporciones de ácido palmítico y del conjunto de ácidos grasos con más de 16 átomos de carbono, en especial del ácido oleico. La reducción en la frecuencia de ordeño disminuyó ligeramente la proporción de ácido palmítico y aumentó la del conjunto de ácidos grasos de más de 16 átomos de carbono.

**Palabras clave:** antioxidantes, vitamina E, frecuencia de ordeño, ácidos grasos.

## INTRODUCCIÓN

La reducción de la frecuencia de ordeño supone un ahorro considerable en los costes de mano de obra dedicada a esta tarea, que puede representar hasta el 55% del trabajo realizado en la explotación.

Esta estrategia, no obstante, tiene como principal desventaja las pérdidas en la producción de leche (Nudda *et al.*, 2002), si bien la respuesta puede variar dependiendo de múltiples factores, incluida la dieta. En este sentido, se ha observado que la inclusión de aceite de girasol en la dieta reduce el efecto negativo sobre la producción de leche asociada con la reducción en la frecuencia de ordeño en la especie ovina (Prieto *et al.*, 2013). Este efecto beneficioso podría estar relacionado con el aporte de vitamina E del aceite de girasol, ya que se ha observado que esta vitamina puede ejercer propiedades proliferativas y antiapoptóticas en células epiteliales de la glándula mamaria (McIntyre *et al.*, 2000), lo que podría contrarrestar los efectos causados por la reducción de la frecuencia de ordeño. Así mismo, también se ha observado que la vitamina E puede influir en la biohidrogenación de los ácidos grasos en el rumen y modificar la expresión de genes implicados en el metabolismo lipídico, modificando el perfil de ácidos grasos de la carne y de la leche (González-Calvo *et al.*, 2013; Liu *et al.* 2008).

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la administración de un suplemento antioxidante (vitamina E + Se) y la frecuencia de ordeño sobre la composición de la grasa de la leche.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 16 ovejas de raza assaf que se distribuyeron en 2 grupos (Control y AOX), de 8 animales cada uno. Los animales de ambos grupos recibieron a voluntad una ración mixta constituida por un 30% de alfalfa deshidratada y un 70% de concentrado (26 % FND, 16 % PB, 4,4% GB). Los animales del grupo AOX recibieron diariamente, vía oral, 1 g de vitamina E (DL--tocoferol acetato, BASF, Burgbernheim, Alemania), equivalente a 1 000 UI, y 0.4 mg de Selenio (selenito de sodio anhidro, Panreac®, Barcelona, España).

El periodo experimental tuvo una duración de 11 semanas distribuidas en dos periodos consecutivos en los cuales se modificó la frecuencia de ordeño (Período 1: de la semana 1 a la 3, durante el cual las ovejas se ordeñaron 2 veces al día, aproximadamente a las 9:30 y 19:30 horas; Período 2: semanas 4 a 11, durante el cual una glándula (glándula A) fue ordeñada una vez al día (1x) y la otra (glándula B) dos veces al día (2x). En la semana 11 del periodo experimental se tomó una muestra de aproximadamente 10 ml de leche de cada animal y glándula para estudiar el perfil de ácidos grasos, que se conservó a -30°C hasta su análisis. La determinación de ácidos grasos se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Morán *et al.* (2013).

Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza, considerando el tratamiento antioxidante y la glándula como efectos fijos. El efecto del tratamiento experimental fue contrastado con el efecto de la oveja anidada al tratamiento. El efecto de la glándula (equivalente a la frecuencia de ordeño) y de la interacción se contrastaron con el error residual. Una descripción más detallada de la metodología y de resultados complementarios se recoge en Pulido *et al.* (2012).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presentan los valores medios de las proporciones de los ácidos grasos cuantitativamente más relevantes, de los principales grupos de ácidos grasos y de las relaciones entre ellos.

**Tabla 2.** Valores medios de la proporción de los ácidos grasos cuantitativamente más importantes, de los principales grupos de ácidos grasos (SFA, MUFA, PUFA,  $\omega$ -3 y  $\omega$ -6: ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados, omega 3 y omega 6, respectivamente) para las dos grupos experimentales (control vs AOX) y frecuencias de ordeños (1x vs 2x).

	Control		AOX		<sup>1</sup> esd	<sup>2</sup> esd	Probabilidad		
	Gland	Gland	Gland	Gland			S	G	S x
	A	B	A	B			G	G	G
	(1x)	(2x)	(1x)	(2x)					
SFA	69,94	70,22	68,38	68,66	1,601	0,195	ns	ns	ns
MUFA	22,13	21,65	23,90	23,40	1,212	0,141	t	**	ns
PUFA	4,28	4,36	4,27	4,32	0,336	0,053	ns	ns	ns
$\omega$ -3	0,36	0,44	0,34	0,44	0,027	0,014	ns	***	ns
$\omega$ -6	3,93	3,91	3,92	3,88	0,329	0,046	ns	ns	ns
MUFA/SFA	0,32	0,31	0,35	0,34	0,025	0,003	t	*	ns
PUFA/SFA	0,06	0,06	0,06	0,06	0,007	0,001	ns	ns	ns
$\omega$ -6/ $\omega$ -3	11,14	8,99	11,59	8,77	0,451	1,605	ns	***	ns
<16 C	35,58	35,88	31,42	31,85	1,453	0,251	***	ns	ns
16 C	24,90	25,30	26,49	26,86	0,926	0,132	*	**	ns
>16 C	39,52	38,83	42,09	41,30	1,656	0,328	*	*	ns
C18:0	10,85	10,23	11,82	11,17	0,818	0,168	ns	**	ns
C18:1	15,62	15,41	17,78	17,57	1,025	0,108	*	t	ns
C18:2 cis <sup>9</sup> trans <sup>11</sup>	0,798	0,785	0,639	0,645	0,179	0,015	ns	ns	ns

Probabilidad para el efecto del suplemento AOX (S), glándula (G) y su interacción (S x G).

ns: P 0,10; t: P 0,10; \*: P 0,05; \*\*: P 0,01; \*\*\*: P 0,001.

<sup>1</sup>Error estándar de la diferencia para el efecto del suplemento AOX.

<sup>2</sup>Error estándar de la diferencia para el efecto de la glándula (frecuencia de ordeño).

La administración del suplemento antioxidante no influyó de forma estadísticamente significativa ( $P > 0,05$ ) en las proporciones de SFA y PUFA. Sin embargo, las diferencias observadas en la proporción de MUFA mostraron una tendencia a la significación ( $P < 0,055$ ), siendo menores los valores correspondientes al grupo Control.

La administración del suplemento AOX disminuyó significativamente ( $P < 0,05$ ) la proporción de ácido grasos de menos de 16 átomos de carbono y aumentó las proporciones de ácido palmítico y del conjunto de ácidos grasos con más de 16 átomos de carbono. El incremento en los ácidos grasos de más de 16 átomos estuvo asociado fundamentalmente a un incremento en la proporción de ácido oleico. El ácido oleico secretado en la leche deriva fundamentalmente de la desaturación del ácido esteárico y se ha observado que la administración de vitamina E aumenta la expresión de diferentes enzimas implicadas en los procesos de desaturación (González-Calvo et al., 2013).

Se ha propuesto que la síntesis *de novo* puede estar condicionada por la propia composición de la grasa de la leche, ya que, para mantener la fluidez de leche, la incorporación de ácidos grasos de cadena corta en los triglicéridos puede ser más o menos necesaria dependiendo del tipo de ácido graso que se sitúe en las diferentes posiciones de los triglicéridos (Loften et al., 2014).

Así, el incremento en la proporción de ácido oleico podría reducir la necesidad de ácidos grasos saturados de cadena corta (<12 C). Además, se ha observado que el ácido oleico inhibe la síntesis *de novo* en las células mamarias (Hansen and Knudsen, 1987).

La reducción en la frecuencia de ordeño disminuyó ligeramente la proporción de ácido palmítico y aumentó la del conjunto de ácidos grasos de más de 16 átomos de carbono. Este aumento fue consecuencia, fundamentalmente, de un aumento en las proporciones de los ácidos oleico y linoleico.

En ganado caprino se ha observado que al aumentar la frecuencia de ordeño (2 a 3 ordeños) incrementaba la actividad de enzimas relacionadas con la síntesis *de novo* en la glándula mamaria (Travers and Barber, 1993). De mantenerse este efecto con cambios de frecuencia menores (de 1 a 2), se podría explicar la reducción observada en el presente estudio en la proporción de ácido palmítico.

Dada la naturaleza del ensayo, la glándula sometida a un solo ordeño podría haber recibido un mayor aporte de ácidos grasos de la dieta en relación con la cantidad de grasa que sintetiza, especialmente de ácido esteárico que suele ser el ácido graso con mayor concentración en la digesta duodenal en los rumiantes (Loften et al., 2014). Un mayor aporte de C18:0, por tanto, podría haberse traducido en una mayor proporción de ácido oleico en la leche de la glándula sometida a un ordeño. No obstante, no pueden descartarse otros posibles mecanismos, ya que cambios en el flujo sanguíneo asociados con el incremento de la presión intramamaria reducirían el aporte de nutrientes.

## CONCLUSIONES

La administración de vitamina E y Se, a las dosis evaluadas en el presente estudio, modifica el perfil de ácidos grasos de la leche, siendo este efecto independiente de la frecuencia con que se ordeñen los animales. La reducción del número de ordeños, de 2 a 1 al día, también modifica la composición de la grasa de la leche, si bien este efecto parece de escasa magnitud, desde una perspectiva cuantitativa.

## AGRADECIMIENTOS

E. Pulido ha disfrutado de una beca predoctoral de la Universidad de Guadalajara, México. El trabajo de investigación ha sido financiado con cargo al proyecto PIE201240E105.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GONZÁLEZ-CALVO, L., RIPOLL, G., MOLINO, F., PÉREZ-VELASCO, L., SARTO, P., SERRANO, M., JOY, M., CALVO, J.H. Efecto de la suplementación con vitamina E en los ácidos grasos poliinsaturados y en la expresión de genes relacionados con el metabolismo lipídico en el *L. Thoracis* de corderos ligeros. XV Jornadas Producción Animal, I,556-558.

HANSEN, H.O. AND KNUDSEN, J. 1987. Effects of exogenous long-chain fatty acids on individual fatty acid synthesis by dispersed ruminant mammary gland cells. *J. Dairy Sci.*, 70, 1350-1354.

LIU, Z.L., YANG, D.P., CHEN, P., DONG, W.X. AND WANG, D.M. 2008. Supplementation with selenium and vitamin E improves milk fat depression and fatty acid composition in dairy ewes. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 21, 838-844.

LOFTEN, J.R., LINN, J.G., DRACKLEY, J.K., JENKINS, T.C., SODERHOLM, C.G., AND KERTZ, A.F. 2014. Invited review: palmitic and stearic metabolism in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 97, 4661-4674.

MCINTYRE, B.S., BRISKI, K.P. AND SYLVESTER, P.W. 2000. Antiproliferative and apoptotic effects of tocopherols and tocotrienols on preneoplastic and neoplastic mouse mammary epithelial cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 224, 292-301.

MORÁN, L., GIRÁLDEZ, F.J., PANSERI, S., ALDAI, N., JORDAN, J., CHIESA, L.M., ANDRÉS, S. 2013. Effect of dietary carnosic acid on the fatty acid profile and flavour stability of meat from fattening lambs. *Food Chemistry* 138, 2407–2414.

NUDDA, A., BENCIN, I.R., MIJATOV, S., AND PULINA, G. 2002. The yield and composition of milk in Sarda, Awassi and Merino sheep milked unilaterally at different frequencies. *J. Dairy Sci.* 85:2879–2884.

PRIETO, N., BODAS, R., LÓPEZ-CAMPOS, O., ANDRÉS, S., LÓPEZ, S., GIRÁLDEZ, F.J. 2013. Effect of sunflower oil supplementation and milking frequency reduction on sheep milk production and composition. *J. Anim Sci.*, 91, 446-454.

PULIDO, E., GIRÁLDEZ, F.J., BODAS, R., ANDRÉS, S., PRIETO, N. 2012. Effect of reduction of milking frequency and supplementation of vitamin E and selenium above requirements on milk yield and composition in Assaf ewes. *J. Dairy Sci.*, 95, 3527-3535.

TRAVERS, M.T. AND BARBER, M.C. 1993. Isolation of a goat acetyl-CoA carboxylase complementary DNA and effect of milking frequency on the expression of the acetyl-CoA carboxylase and fatty acid synthase genes in goat mammary gland. *Comp. Biochem. Physiol*, 105B, 123-128.

## EFFECT OF MILKING FREQUENCY AND SUPPLEMENTATION OF VITAMIN E AND SELENIUM ON MILK FATTY ACID PROFILE IN ASSAF EWES

### SUMMARY

Sixteen lactating Asaaf ewes were used to study the effect of milking frequency and supplementation with an antioxidant vitamin-mineral complex on milk fatty acid profile. Eight ewes were assigned to a control group and the remaining 8 to the antioxidant treatment, who received daily an oral dose of 1 g of vitamin E (1000 IU, DL-alpha-tocopherol acetate) and 0.4 mg of selenium (sodium selenite anhydrous). Animals were fed ad libitum the same total mixed ration. The experiment consisted of 2 consecutive periods of a 3 wk (twice-daily milking in both mammary glands) and 8 wk (once-daily milking in one gland and twice-daily milking in the other gland). Administration of the antioxidant supplement had no effect ( $P>0.05$ ) on SFA and PUFA proportions. However, it decreased ( $P <0.05$ ) the proportion of total FA shorter than 16 C and increased proportions of both palmitic acid and the total FA longer than 16 C, especially oleic acid. The reduction in milking frequency slightly decreased the proportion of palmitic acid whereas the proportion of FA longer than 16 C was increased.

**Keywords:** antioxidant, vitamin E, milking frequency, milk fatty acid profile.