

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIA ANIMAL



COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS A LO LARGO DE LA LACTACIÓN DE LA LECHE DE OVEJA GUIRRA VS. MANCHEGA

TESIS DE MÁSTER

ALUMNA:

ELENA ESCOLAR SAVAL

DIRECTOR ACADEMICO:

MARTÍN RODRÍGUEZ GARCÍA

VALENCIA, DICIEMBRE DE 2007

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Características de la leche de oveja	1
1.2. Factores que afectan a la composición de ácidos grasos en la leche	
1.2.1. Efecto de la alimentación.....	6
1.2.2. Efecto del estado de lactación	9
1.2.3. Efecto de la Raza	9

2. OBJETIVOS.....11

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ensayo 1

3.1.1. Animales.....	12
3.1.2. Diseño experimental.....	13
3.1.3. Toma y manipulación de las muestras.....	13
3.1.4. Metodología analítica	
3.1.4.1. Composición de la leche.....	14
3.1.4.2. Composición en ácidos grasos.....	14
Extracción de las grasas.....	14
Metilación de los ácidos grasos.....	16
Cromatografía de gases.....	16
Equipo y condiciones analíticas.....	17
Evaluación de los resultados.....	18
3.1.5. Análisis estadístico.....	18

3.2. Ensayo 2

3.2.1. Animales.....	19
3.2.2. Diseño experimental.....	19
3.2.3. Toma y manipulación de las muestras.....	20
3.2.4. Metodología analítica	
3.2.4.1. Composición de la leche.....	20
3.2.4.2. Composición en ácidos grasos.....	20
3.2.5. Análisis estadístico.....	20

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Ensayo 1. Composición de la grasa láctea en toda la lactación

4.1.1. Efecto raza.....	21
4.1.2. Efecto etapa de lactación.....	24
4.1.3. Efecto del número de lactación.....	30

4.2. Ensayo 2. Composición de la grasa láctea en la segunda mitad de la lactación.

4.2.1. Efecto año.....	33
------------------------	----

4.2.2.	Efecto raza.....	34
4.2.3.	Efecto etapa.....	37
4.2.4.	Efecto número de lactación.....	38
5.	CONCLUSIONES.....	41
6.	BIBLIOGRAFÍA.....	42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición media de la leche de oveja, cabra y vaca.....	1
Tabla 2. Composición de la ración suministrada a los animales.....	12
Tabla 3. Efecto de la raza Guirra <i>vs.</i> Manchega sobre la producción de leche (ml/día), contenido en grasa (%), composición de ácidos grasos (%) en toda la lactación.....	23
Tabla 4 Efecto de la etapa de lactación en la composición de ácidos grasos (%) de la leche de oveja, durante toda la lactación.....	26
Tabla 5 Efecto del número de lactación sobre la producción de leche (ml/día), contenido en grasa (%)y composición de ácidos grasos (%) en leche de oveja	30
Tabla 6. Efecto del año sobre la producción de leche (ml/día), contenido en grasa (%) y composición de ácidos grasos (%) en leche de oveja en la segunda mitad de la lactación.....	34
Tabla 7. Efecto de la raza sobre la producción de leche (ml/día), contenido en grasa (%) y composición de ácidos grasos (%) en leche de oveja en la segunda mitad de la lactación.....	35
Tabla 8. Efecto de la etapa de lactación sobre la producción de leche (ml/día), contenido en grasa (%) y composición de ácidos grasos (%) en leche de oveja en la segunda mitad de la lactación.....	38
Tabla 9. Efecto del número de lactación sobre la producción de leche (ml/día), contenido en grasa (%) y composición de ácidos grasos (%) en leche de oveja en la segunda mitad de la lactación	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Calendario experimental del ensayo 1.....	13
Figura 2. MilkoScan FT120, FOSS.....	14
Figura 3. Material y reactivos usados en la extracción de las grasas.....	15
Figura 4. Cromatógrafo utilizado en el ensayo.....	17
Figura 5. Calendario experimental del ensayo 2.....	19
Figura 6. Curvas de lactación en ovejas Guirras y Manchegas y evolución del contenido en grasa de la leche.....	24
Figura 7. Efecto de la etapa de lactación sobre el contenido en los distintos ácidos grasos (%) de cadena corta en la grasa de la leche.....	27
Figura 8. Efecto de la etapa de lactación sobre el contenido en los distintos ácidos grasos (%) mayoritarios de cadena media en la grasa de la leche.....	28
Figura 9. Efecto de la etapa de lactación sobre el contenido en los distintos ácidos grasos (%) minoritarios de cadena media en la grasa de la leche.....	28
Figura 10. Efecto de la etapa de lactación sobre el contenido en los distintos ácidos grasos (%) mayoritarios de cadena larga en la grasa de la leche.....	29
Figura 11. Efecto de la etapa de lactación sobre el contenido en los distintos ácidos grasos minoritarios de cadena larga en la grasa de la leche.....	29
Figura 12. Interacción de la etapa con el número de lactación de las ovejas en cuanto al porcentaje de ácidos grasos de cadena larga en la leche.....	31
Figuras 13 y 14. Interacción de la etapa con el número de lactación de las ovejas en cuanto al porcentaje de ácidos grasos saturados e insaturados en la leche	31
Figura 15. Interacción de la etapa con el número de lactación de las ovejas en el índice de aterogenicidad de la leche.....	32
Figuras 16, 17 y 18. Evolución de los AG de cadena corta, media y larga en los dos años del experimento en la raza Guirra y Manchega	36
Figuras 19 y 20. Evolución de los AG saturados e insaturados en los dos años del experimento en la raza Guirra y Manchega.....	37

LISTADO DE ABREVIATURAS

ACC: acetyl-CoA carboxilasa

AG: ácidos grasos

AGCC: ácidos grasos de cadena corta

AGCL: ácidos grasos de cadena larga

AGCM: ácidos grasos de cadena media

AGL: ácidos grasos libres

AGV: ácidos grasos volátiles

CC: cadena corta

CL: cadena larga

CLA: ácido linoleico conjugado

CM: cadena media

FAS: sintetasa de ácidos grasos

IA: índice de aterogenicidad

INSAT: ácidos grasos insaturados

MUFA: ácidos grasos monoinsaturados

PUFA: ácidos grasos poliinsaturados

SAT: ácidos grasos saturados

RESUMEN

En este trabajo se estudia la producción de leche, el contenido en grasa y su composición en ácidos grasos en ovejas de las razas Guirra y Manchega durante toda la lactación, distinguiendo el número de lactación de las ovejas (primera *vs* \geq segunda). En la dieta de los animales se utilizaron subproductos de la industria citrícola (naranja de destrío y pulpa de naranja), característicos de la región valenciana.

Se realizaron dos ensayos en dos lactaciones consecutivas. En el primero de ellos se utilizaron 36 ovejas, de ellas 14 eran de primera lactación (8 Guirras y 6 Manchegas) y 22 de segunda o más lactaciones (12 Guirras y 10 Manchegas), que amamantaron a sus corderos durante 6 semanas y posteriormente fueron ordeñadas hasta la semana 18 de lactación. Se tomaron muestras individuales de leche total obtenida en el ordeño diario (ordeño mañana+ordeño tarde) en las semanas 2, 5, 9, 13 y 16 de lactación.

En el segundo ensayo se utilizaron 48 ovejas, 18 de primera lactación (9 Guirras y 9 Manchegas) y 30 de segunda o más lactaciones (24 Guirras y 6 Manchegas). Durante el periodo de ordeño se tomaron muestras de leche en las semanas 13 y 16 de lactación, para su posterior análisis. Este ensayo sirvió para corroborar los resultados del ensayo anterior.

El análisis de la grasa se realizó mediante espectrofotometría de infrarrojos, con el MilkoScan FT120 y el contenido en ácidos grasos totales se llevó a cabo después de hacer una extracción de las grasas con disolventes, la metilación de los ácidos grasos mediante una derivatización, y el posterior análisis con un cromatógrafo de gases Fisson modelo 8160.

Se observó que las ovejas Guirras, respecto a las Manchegas, tienen una menor producción de leche, con mayor contenido en grasa.

La composición de la grasa láctea de las ovejas Guirras respecto a las Manchegas presentó un menor contenido en los ácidos grasos de cadena corta (caproico y caprílico) y media, y un mayor contenido en los ácidos grasos de cadena larga; y con mayor proporción de ácidos insaturados.

La etapa de lactación fue el factor que más influyó en la producción, en el contenido en grasa y en el perfil de ácidos grasos de la leche. El contenido en ácidos grasos de cadena larga y cadena media siguió tendencias opuestas a lo largo de la lactación, los primeros disminuyeron progresivamente, mientras que los segundos aumentaron. Los AG de cadena corta variaron poco en la primera mitad de la lactación, y se redujeron durante la segunda mitad. El índice de aterogenicidad de la leche aumentó a medida que progresaba la lactación, con lo que se puede afirmar que la leche de las primeras etapas es nutritivamente más saludable.

Las ovejas de primera lactación, cuya edad era de 2 a 2,5 años, no tuvieron una producción y un contenido en grasa significativamente ($P > 0,05$) menor que las ovejas adultas (≥ 2 lactaciones). Sin embargo, el número de lactación influyó en la composición de la grasa láctea. Las ovejas primíparas, respecto a las adultas (≥ 2 lactaciones) presentaron un menor contenido en AG de cadena media y de saturados, así como un mejor (más bajo) índice de aterogenicidad de la leche.

1. Introducción

1.1. Características de la leche de oveja

La leche de oveja, a diferencia de la leche de vaca que se destina en su mayoría al consumo del producto líquido, se utiliza para la elaboración de quesos y otros productos lácteos derivados (Haenlein, 2001). La aptitud quesera de la leche depende de la composición química, especialmente la grasa y la proteína. Aproximadamente un 1,3% del total de la leche producida en el mundo proviene de ovinos (FAOSTAT, 2006) siendo los países mediterráneos los de mayor tradición en la producción y procesamiento de leche de pequeños rumiantes.

En España, la producción de leche de oveja durante el año 2005 fue de 377 mil toneladas, que representa el 6% del total de leche producida y que es ligeramente superior a la producción de leche de cabra (5,2%). (EUROSTAT, 2006).

La leche está compuesta por agua, grasa, proteína, lactosa y minerales. Las concentraciones de cada uno de ellos varían según las especies, la raza, la alimentación, el estado de lactación, la salud del animal, la edad, las condiciones climáticas, etc. La leche de oveja se diferencia de la de cabra y vaca porque presenta un mayor contenido de sólidos totales, grasa y proteína (Tabla 1)

Tabla 1. Composición media de la leche de oveja, cabra y vaca.

Componente (%)	Oveja^a	Cabra^b	Vaca^c
Extracto seco	14,3 – 16,8	9,0 – 12,7	10,6 – 16,4
Proteína total	3,7 – 9,3	2,4 – 3,8	3,0 – 4,1
Grasa	2,4 – 10,4	2,6 – 5,4	3,3 – 6,9
Lactosa	3,4 – 6,2	4,4 – 4,8	4,6 – 5,4
Caseína	3,4 – 6,9	1,8 – 2,7	2,4 – 3,0

Fuente: ^aPugliese et al. (2000); Bencini (2002); Jaeggi et al. (2005)

^bSoryal et al. (2005); Zullo et al. (2005)

^cAuldust et al. (2004)

La grasa es el componente que aporta la mayor parte de la energía y es el factor que más influye en las características físicas, tecnológicas y organolépticas de la leche y por lo tanto, de los derivados lácteos (Bauman *et al.*, 2006; Sevi *et al.*, 2004)

Delacroix-Buchet *et al.* (2000) indican, en ganado caprino, que la composición de los lípidos es uno de los componentes más importantes en cuanto a calidad tecnológica y nutricional de la leche. Los lípidos influyen en el rendimiento quesero (Jaeggi *et al.*, 2005) y la firmeza del queso, así como del color y del flavor de los productos lácteos derivados. También hay que destacar del valor añadido que pueden tener estos productos si se incrementan, por ejemplo, mediante la alimentación de los animales, la proporción de algunos ácidos grasos que se ha comprobado son beneficiosos para la salud.

La grasa de la leche está formada mayoritariamente (un 96-99% en peso del total de la grasa) por triglicéridos, seguidos de diglicéridos y fosfolípidos (con un 0,3-1,6% y un 0,2-1% respectivamente). Hay otros componentes lipídicos minoritarios, pero no por ello menos importantes, como son los ácidos grasos libres (0,1-0,4%), que influyen notablemente al 'flavor' de la leche y los productos derivados. El desarrollo de las características organolépticas de dichos derivados está directamente relacionado con los ácidos grasos libres (AGL), especialmente entre el C6 y el C9 volátiles ramificados, que son más abundantes en la grasa de la leche de pequeños rumiantes que en la de vaca (Chilliard *et al.*, 2003).

Los triglicéridos consisten en tres ácidos grasos (AG) asociados a una molécula de glicerol. Sus propiedades están determinadas por la naturaleza y cantidad relativa de cada uno de los AG de su molécula. Cabe decir que se han identificado cientos de AG distintos, existiendo, por tanto, un grandísimo número de triglicéridos diferentes (Jensen, 2002).

La composición en ácidos grasos influye en las propiedades tecnológicas de la grasa, como el punto de fusión, la densidad, etc. (Masanori, 2002), debido a factores como:

- **Grado de instauración** (número de dobles enlaces): los ácidos grasos se clasifican como saturados si no tienen dobles enlaces, o insaturados si los

tienen. Los AG insaturados pueden ser monoinsaturados (MUFA) o poliinsaturados (PUFA), dependiendo del número de dobles enlaces que hay en la cadena de carbonos. La leche de rumiantes contiene en torno a un 4-5% de PUFA, siendo los más importantes el ácido linoleico (C18:2) y el ácido linolénico (C18:3), un 21-25% de MUFA, siendo el más abundante el ácido oleico (C18:1) y un 70-75% de AG saturados, siendo los más importantes desde el punto de vista nutritivo el palmitico (C16:0) y el esteárico (C18:0) (Bouattou, 2007).

- **Longitud de las cadenas** (de 4 a 18 átomos de carbono, predominando los de cadena par son los más frecuentes): la clasificación según la longitud de cadena o número de átomos de carbono fue establecida por Bloor (1943) en tres categorías:
 - o AG de cadena corta: de 4 a 6 carbonos.
 - o AG de cadena media: de 8 a 14 carbonos.
 - o AG de cadena larga: de 16 a 24 carbonos.

Otros autores, como por ejemplo Chilliard *et al.* (2004), clasifican los AG de cadena corta como los de 4 a 8 carbonos, los de media de 10 a 16 y los de cadena larga de 18 en adelante. Fernández-García *et al.* (2006) consideran los de cadena media del C10:0 al C14:0. Reynolds *et al.* (2006) hacen una clasificación del siguiente modo: hasta 12 carbonos corresponderían a cadena corta, de 14 a 16 carbonos cadena media, y a partir de 18, al igual que Zhang *et al.* (2006). Cabiddu *et al.* (2006) consideran de cadena corta hasta 10 carbonos, de cadena media hasta 16 y larga en adelante.

- **Posición** (*cis* o *trans*) e isomería geométrica: en el caso de ser insaturados, cada ácido graso puede tener una forma de configuración geométrica. La forma *cis* mantiene en la misma orientación los dos átomos de carbono del doble enlace, mientras que si la orientación es contraria, el isómero es *trans*. Según Masanori (2002), los ácidos grasos *trans* poseen características interesantes para el procesado de los productos, sin embargo, son considerados perjudiciales para la salud, salvo algunas excepciones como el trans-11 C18:1 o trans vacénico (TVA).

- **Ramificaciones** que algunos ácidos grasos pueden presentar mediante una cadena ramificada con un grupo terminal $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$.

La leche y los productos lácteos suministran entre el 25 y el 35% de los lípidos saturados consumidos por los humanos, lo cual ha convertido a la grasa de la leche en objetivo de muchas críticas (Bouattour, 2007), ya que los lípidos saturados contribuyen al desarrollo de hipercolesterolemias, aterosclerosis y otros problemas cardiovasculares (Noakes *et al.*, 1996). Sin embargo, se ha comprobado que no todos los ácidos grasos saturados son aterogénicos, como es el caso del esteárico o el ácido butírico (Bauman *et al.*, 2006; Cabiddu *et al.* 2006), y que varios AG insaturados poseen propiedades positivas para la salud humana (Dhiman *et al.*, 2000; Cabiddu *et al.*, 2006; Chilliard *et al.*, 2006).

A raíz del creciente interés por parte de los consumidores de los alimentos funcionales, es decir, alimentos que tienen efectos beneficiosos sobre la salud más allá de su valor nutritivo convencional (Milner *et al.*, 1999), hay un gran interés por tratar de modelar la fracción lipídica y así responder a las necesidades dietéticas, mejorando el impacto de los lípidos lácteos. En resumen, se trataría de reducir las concentraciones de SAT y aumentar las de PUFA (Zhang *et al.*, 2006).

Las características organolépticas (sensoriales y reológicas) del queso o de cualquier producto derivado de la leche pueden verse condicionadas por la composición en ácidos grasos de la leche (Palmquist *et al.*, 1993; Chilliard *et al.* 2001; Chilliard *et al.*, 2004; Morand-Fehr *et al.*, 2007). Por ejemplo, es sabido que los ácidos grasos volátiles de cadena corta poseen un fuerte y, a veces, ofensivo olor. Esto, indudablemente, tendrá una influencia clara en el aroma posterior del queso (Fox *et al.*, 1997). Es importante conocer el perfil de los ácidos grasos, los factores que pueden influir en dicho perfil y los efectos beneficiosos para la salud que tienen algunos de estos ácidos grasos, especialmente los poliinsaturados.

Los AG tienen dos orígenes, pueden provenir de los ácidos grasos transportados por el plasma sanguíneo (60%), normalmente de origen alimenticio, o son sintetizados *de novo* (40%) en la glándula mamaria a partir de acetato y β -hidroxibutirato (Chilliard *et al.*, 2001), ambos provenientes de los ácidos grasos volátiles (AGV) producidos en el

rumen. Hay dos enzimas principales involucrados en estas vías metabólicas, que son la acetil-CoA carboxilasa (ACC) y la sintetasa de ácidos grasos (FAS), esta última con la función de sintetizar AG menores de 16 carbonos. La mayoría de los ácidos grasos originados *de novo* son saturados (del C4 al C16) y esto es debido a que la delta-9 desaturasa (enzima que convierte el ácido esteárico en oleico) tiene una actividad muy débil en AG con menos de 18 carbonos. Los AG de cadena larga, es decir, de más de 18 carbonos, son fuertes inhibidores de la acetil-CoA carboxilasa y de la lipogénesis *de novo* en células mamarias. Este efecto es más marcado cuanto más larga es la cadena, más insaturaciones tenga y más dobles enlaces con configuración *trans* tengan. (Chilliard, 2000).

Los lípidos provenientes del alimento son, en una primera etapa, hidrolizados en el rumen para producir glicerol y ácidos grasos libres (AGL), siendo el glicerol transformado más tarde en AGV. En una segunda etapa y debido a la actividad microbiana del rumen, los AGL sufren un proceso de biohidrogenación por la acción de isomerasas y reductasas (Bauman *et al*, 2003). El ácido linoleico (*cis9, cis12-18:2*) es isomerizado a ácido ruménico (*cis9, trans11-18:2*), el cual es hidrogenado más tarde a ácido vaccénico (*trans11-18:1*) y eventualmente a ácido esteárico (C18) (Chilliard *et al.*, 2004). Se han encontrado más de 12 isómeros mono-insaturados del C18 en el rumen, lo que hace pensar que las vías metabólicas son muy complejas.

Los AG poliinsaturados (PUFAs) no son sintetizados por el propio animal, sino que su concentración está directamente relacionada con la alimentación y posterior absorción por el intestino. La cantidad de PUFAs puede verse incrementada por la ingestión de PUFA y por factores que disminuyen la hidrogenación en el rumen, como por ejemplo con AG atrapados en células vegetales, con un alto ratio de forraje/concentrado o por la ingestión de aceites encapsulados ricos en PUFAs (Chilliard *et al.*, 2004).

Al contrario que los AG de cadena media y larga, las concentraciones de AG de cadena corta (C4, C6 y C8 en menor medida) son muy difíciles de modificar mediante la adición de suplementos lipídicos en la dieta, o por la movilización de lípidos corporales. Probablemente esto es debido a que esos AG son parcialmente sintetizados por vías metabólicas no dependientes de la acetil-CoA carboxilasa.

La alimentación, el estado de lactación o la raza son los principales factores que afectan a la composición en ácidos grasos de la grasa láctea (Scintu *et al.*, 2007).

1.2. Factores que afectan a la composición de ácidos grasos en la leche.

1.2.1. Efecto de la alimentación

Durante años han sido numerosas las investigaciones llevadas a cabo para determinar la influencia de la alimentación en el perfil de ácidos grasos en leche de vaca, cabra y oveja. Con el fin de obtener unos productos derivados lácteos con una fracción lipídica más beneficiosa para la salud, se trata de ver qué tipo de alimentos contribuyen al aumento de determinados ácidos grasos en la leche o los productos lácteos, que pueden reducir riesgos cardiovasculares (como el *cis9-18:1*), u otros que podrían ser anti-carcinogénicos (el *trans11-18:1*, o el *cis9, trans11-18:2* más conocido como ácido linoleico conjugado o CLA) (Dewhurst *et al.*, 2006).

Entre otros alimentos, se ha estudiado la influencia de **semillas oleaginosas**. Bouattour *et al.* (2006) estudiaron la influencia de la utilización de semillas de linaza sobre el contenido de ciertos AG en la leche de ovejas Lacaune. Encontraron que con la adición de semillas de linaza disminuían ligeramente los SAT y aumentaban algo los PUFAs. Cabe destacar que con esta alimentación aumentaba significativamente el porcentaje de grasa de la leche, siendo la producción de leche similar a la del grupo control.

También los **forrajes** han sido objeto de estudio: Nudda *et al.* (2003) vieron que los mismos animales alimentados con pastos tenían más CLA que cuando eran alimentados con concentrados. Dhiman *et al.* (2005) también trabajaron comparando alimentación a base de forrajes y de grano, y obtuvieron los mismos resultados. White *et al.* (2001) trabajaron con **ensilados** con los mismos propósitos.

A raíz del gran interés generado por los PUFA, sobre todo los $\omega 3$ y los $\omega 6$, por sus anteriormente comentados efectos beneficiosos para la salud humana, Papadopoulos *et al.* (2002), con ovejas Karagouniko, utilizaron **algas** y demostraron que aumentaban las concentraciones de AG de cadena larga como por ejemplo C20:5,

C22:5 y C22:6, tanto en la leche como en productos derivados (queso Feta, yogur). Se han estudiado distintos tipos de **vegetales/plantas**, por ejemplo Cabiddu, A. *et al.* (2006) comprobaron el efecto del *Chrysanthemum coronarium* en la dieta de ovejas de raza Sarda, siendo mayores las concentraciones de CLA, ácido vaccénico y ácido linoleico que cuando dichas ovejas eran alimentadas sin él. Masucci *et al.* (2006) trabajaron con altramuces (*Lupinus Albus*) y soja, y vieron que la leche de sus ovejas Sardas contenía un mayor porcentaje de AG de cadena corta y media cuando eran alimentadas con altramuces, que aquellas alimentadas con soja, es decir, que modificando la alimentación, modificaban el perfil de ácidos grasos de la leche.

Son numerosos los estudios con distintos **aceites vegetales**, como los de girasol, soja, maíz, colza, lino, cártamo, cacahuete, etc. Tanto Bell *et al.* (2006) en ganado vacuno, como Bouattour *et al.* (2006) con ovejas Lacaune estudiaron el efecto de aceite de linaza. Tendió a aumentar el nivel de PUFA (en concreto, el nivel de CLA) en la leche, mientras que no variaba significativamente la producción diaria de leche. También Bell *et al.* (2006) estudiaron en ganado vacuno el aceite de cártamo, encontrando una disminución en AG de cadena corta, un porcentaje de 35% de AG de cadena media, frente al 62% del grupo control, y lógicamente un gran aumento (del 200%) de AG de cadena larga. Reynold *et al.* (2006) estudiaron el efecto de aceite de algas marinas en ovejas Hampshire x Dorset, que aunque les disminuyó la producción de leche, aumentó los MUFA y los PUFA y disminuyó los SAT.

Se han utilizado también **lípidos encapsulados**. Esto se hace para proteger los lípidos de la biohidrogenación del rumen rodeándolos de una matriz de caseína tratada con formaldehídos. El objetivo es intentar mejorar la transferencia de PUFA de la ración a la leche y también así obtener leche con un bajo contenido en AG saturados (Scott *et al.*, 1971). Este método se ha utilizado bastante en vacuno de leche (Chilliard *et al.*, 1993), pero poco en pequeños rumiantes, por ejemplo Gulati *et al.* (1997) comprobaron con semillas de colza protegidas que en cabras aumentaba la cantidad de C18:1, C18:2 y C18:3 proporcionalmente a lo que se muestra con aceite de colza.

En la última década se han estudiado intensamente los **aceites de pescado** o más correctamente llamados aceites marinos (aceites de pescado, de mamíferos marinos, de plankton y algas), ricos en PUFA (Chilliard *et al.*, 1997; Chilliard *et al.*, 2001), y se ha llegado a la conclusión de que, aunque disminuyen el contenido en

grasa de la leche, aumentan el contenido en ácidos grasos poliinsaturados n3 y el contenido en CLA. Kiteessa *et al.* (2001), en ovejas lecheras, observaron una depresión de la ingestión de alimentos cuando los animales recibieron un 3% de aceite de atún no protegido.

Otro tipo de alimentación animal muy utilizado son los residuos de cultivos o **subproductos agroindustriales**. El más utilizado es la pulpa de cítricos deshidratada, que por su composición puede sustituir a fuentes energéticas más costosas. También han sido evaluados otros subproductos cítricos, como son las naranjas ensiladas (Volanis *et al.*, 2004), obteniendo un descenso en la producción de leche y un aumento en su contenido en grasa.

Es necesario pensar que antes de recomendar a los ganaderos cambiar la alimentación de los animales para modificar la composición de AG de la leche, es importante asegurarse de que la inclusión de ciertos alimentos no va a ir en detrimento de la calidad sensorial de los productos lácteos derivados. Una forma de llevar a cabo esto es mediante la realización de catas de la leche, de cuajada, yogur o quesos. En ganado vacuno se ha comprobado que hay diferencias de sabor entre leche de animales alimentados con pasto y alimentados con heno o dietas altamente concentradas (Chilliard *et al.* 2004).

En el queso y la mantequilla, además de la calidad sensorial, hay que tener en cuenta aspectos de textura. Algunos AG ejercen un efecto específico en la dureza y la untabilidad de la mantequilla. Al aumentar el palmítico y disminuir AG de cadena corta, se disminuye la untabilidad. El ratio 16:0/cis9-18:1 es el mayor indicador de la firmeza de la mantequilla (Hurtaud *et al.*, 2001). Respecto al queso, como se ha comentado anteriormente, el tipo de pasto conduce a una modificación en el perfil de AG de la leche, lo que afecta también a su textura.

Se puede decir que la alimentación es el factor predominante en cuanto a la composición de la leche (Bauman *et al.*, 2001; Bocquier *et al.*, 2001).

1.2.2. Efecto del estado de lactación

La producción diaria de leche en la oveja evoluciona a medida que avanza la lactación siguiendo una curva que alcanza su máximo en las primeras semanas después del parto, disminuyendo a partir de ese momento.

Los principales componentes de la leche también evolucionan a lo largo de la lactación siguiendo una curva similar a la de la producción, pero a la inversa. La grasa disminuye cuando más alta es la producción, debido a un efecto de dilución.

El perfil de los ácidos grasos que constituyen la grasa láctea varía de forma que los de cadena larga presentan sus mayores valores después del parto en ganado ovino (Gajdusek *et al.*, 1992), coincidiendo con valores obtenidos en ganado vacuno (Palmquist *et al.*, 1993), en los que se ve que al inicio de la lactación, cuando las vacas están en un balance de energía negativo, se movilizan los ácidos grasos del tejido adiposo y los ácidos grasos de cadena larga se incorporan a la leche.

Los ácidos grasos saturados de cadena corta son los que manifiestan más variabilidad durante la lactación (Gajdusek *et al.*, 1992), encontrándose valores más altos en el primer mes de lactación. Este autor, con ovejas de la raza Tsigai, no obtuvo apenas cambios para el ácido oleico. Sin embargo, los ácidos linoleico y linolénico, que eran minoritarios, tenían su máxima concentración justo después del parto, y el valor mínimo hacia el día 20 de la lactación.

Según Auld *et al.* (1998), con vacas de raza Frisona, el estado de lactación tuvo un nivel significativo en la mayoría de ácidos grasos analizados. Encontraron que los MUFA, y en particular el ácido oleico, tenían su máximo al principio de la lactación.

1.2.3. Efecto de la raza

Así como los efectos de la alimentación han sido largamente estudiados, los efectos que puedan tener las características intrínsecas de las razas en la composición de ácidos grasos de la leche no han sido muy estudiados, siendo con el ganado vacuno donde más se ha trabajado.

Para ver cuál es el efecto atribuible a la raza, Kelsey *et al.* (2003) comprobaron que había diferencias entre vacas de raza Holstein y Brown Swiss en cuanto al perfil de ácidos grasos. Los de cadena corta y media (< 16 carbonos) representaron un 21,4% en la Holstein y un 23,2% en la Brown Swiss. En los ácidos grasos de cadena larga se obtuvo un 49,2% y un 47,4% para Holstein y Brown Swiss respectivamente. La raza Holstein tuvo una grasa de 3,41%, mientras que la Brown Swiss dio un 3,86%. La producción fue bastante menor en la raza Brown Swiss que en la otra raza objeto de estudio.

También Lawles *et al.* (1999) estudiaron el efecto de la raza con vacas de 4 razas diferentes, la Irish Holstein/Friesian (IH), Dutch Holstein/Friesian (DH), Montbeliardes (MB) y Normandes (NM), alimentadas todas igualmente mediante pasto. Encontraron diferencias significativas en algunos ácidos grasos, por ejemplo, en las razas MB y NM se encontraron concentraciones menores de C_{16:0} y mayores de C_{18:0} y C_{18:1} que en las IH o DH.

Palmquist *et al.* (1992), trabajando también en vacuno, encontraron diferencias entre las razas Jersey y Holstein en los porcentajes de C₆ a C₁₄, más abundantes de un 8 a un 42% en Jerseys; y el esteárico (C₁₈) y el oleico (C_{18:1}) fueron un 13 y un 15% respectivamente más bajos en esta misma raza, independientemente del tipo de dieta. Al igual que en la experiencia de Kelsey et al (2003) comentada anteriormente, la raza más productora, en este caso también la Holstein, y con porcentajes de grasa menores que la Jersey, es la que tiene valores de ácidos grasos de cadena corta más bajos, y más altos de cadena larga.

Fernández-García *et al.* (2006) estudiaron la variación del perfil de ácidos grasos en 3 quesos distintos españoles: Manchego, Zamorano y de La Serena. Las diferencias más significativas las encontraron en ácidos grasos insaturados, los cuales estaban en mayor proporción en el queso de La Serena. Estas diferencias fueron atribuidas a la raza.

2. Objetivos

La leche de oveja es utilizada principalmente para la fabricación de quesos, en los que se busca un sabor personalizado que identifique el queso específico de cada raza. La composición de la grasa láctea tiene una gran importancia en las características de aroma y sabor del queso (Palmquist *et al.*, 1993; Chilliard *et al.* 2001; Chilliard *et al.*, 2004; Morand-Fehr *et al.*, 2007), que se ve muy afectada por la composición de la dieta que reciben los animales en su zona de explotación. Además, se ha comprobado que la raza es una fuente de variación sobre la composición de ácidos grasos de la leche (Fernández-García *et al.*, 2006).

Los objetivos de este trabajo son:

- Estudiar el contenido en ácidos grasos que presenta la grasa de la leche en la oveja Guirra, utilizando como referencia ovejas de raza Manchega, cuando reciben una dieta basada en subproductos de la industria de los cítricos, característica de la región valenciana.
- Analizar los factores de variación (etapa de lactación y número de lactación de las ovejas) sobre el contenido en ácidos grasos de la leche.

3. Materiales y métodos

Este trabajo se ha realizado en la granja experimental y laboratorios de la Unidad de Producciones Animales del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia.

3.1. Ensayo 1

3.1.1. Animales

Se utilizaron 36 ovejas en lactación (21 de raza Guirra y 15 de raza Manchega), pertenecientes al rebaño experimental de ganado ovino del Departamento de Ciencia Animal. De éstas, 14 ovejas eran de primera lactación (8 Guirras y 6 Manchegas) y 22 de segunda o más lactaciones (12 Guirras y 10 Manchegas).

El sistema de producción utilizado fue de lactancia natural con un período de cría de 6 semanas. Después del destete los animales fueron ordeñados 2 veces al día (a las 8:00 y a las 17:00) hasta el final de la lactación.

Los animales estuvieron en régimen de estabulación permanente, y la alimentación se realizó siguiendo las recomendaciones del I.N.R.A. (1990), cuya composición se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2: Composición de la ración suministrada a los animales.

Alimento	g MS
Cebada	466,33
Pulpa de remolacha	180
Cítricos de destrío	250
Harina de soja	256,67
Alfalfa	1000
Paja	260
Melazas	30
Complejo vitamínico	74
Total	2517

En cuando al ordeño, la granja dispone de una sala tipo CASSE con 2 plataformas para 12 ovejas cada una y 6 unidades de ordeño en línea alta.

La rutina de ordeño fue la de 'ordeño a máquina', 'apurado a máquina', 'repasso manual' y desinfección de pezones.

3.1.2. Diseño experimental.

La parte experimental del ensayo se llevó a cabo durante la lactación de otoño-invierno en las instalaciones de la granja de ovino de la Universidad Politécnica de Valencia tal y como se muestra en la figura 1.

El periodo de cría fue de 6 semanas. Después del destete, para cada oveja se tomaron muestras cada dos semanas aproximadamente.

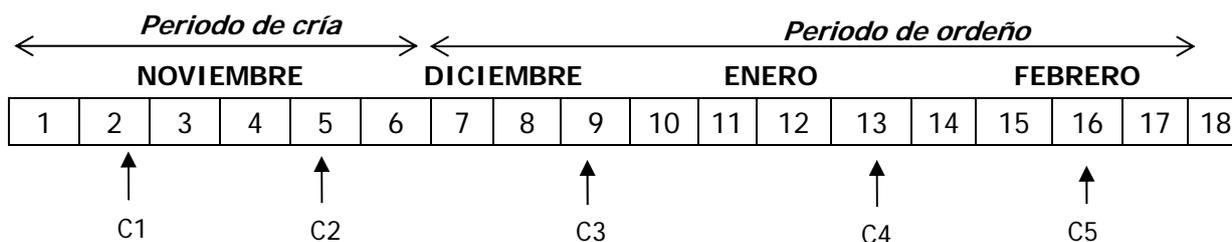


Figura 1: Calendario experimental del ensayo 1.

3.1.3. Toma y manipulación de las muestras.

Las muestras se tomaron los días del control a partir de los ordeños de la mañana (8:00) y de la tarde (17:00), elaborando una mezcla bien homogeneizada con la proporción 60/40, debido al diferente intervalo horario entre ordeños.

Inmediatamente después de su recogida, las muestras se trasladaban al laboratorio, donde se distribuían en 2 alícuotas de 50 ml cada una y se congelaban a -32 °C hasta el momento de realizar los análisis de ácidos grasos.

3.1.4. Metodología analítica

3.1.4.1. Composición de la leche.

El contenido en grasa, proteína, lactosa y materia seca de la leche, se determinaron en LICOVAL (Laboratorio Interprofesional Lechero de la Comunidad Valenciana) al día siguiente de la recogida, mediante un equipo automático basado en la espectrofotometría de infrarrojos (MilkoScan FT120, FOSS, Hillerod, Dinamarca), calibrado para leche de oveja.



Figura 2: MilkoScan FT120, FOSS.

Las comprobaciones periódicas del equipo se realizaban utilizando el método butírométrico de Gerber (FIL 105:1981) para materia grasa

3.1.4.2. Composición en ácidos grasos.

Extracción de las grasas

Para la extracción de la materia grasa de la leche se utiliza el método que corresponde con la Norma ISO 14156:2001/IDF 172:2001. Los lípidos y compuestos liposolubles son extraídos y separados para el análisis mediante el uso de disolventes.

Se extrae la muestra del congelador, y una vez descongelada, se calienta en agua a 35-40 °C. Se homogeneiza la muestra y se deja enfriar a temperatura ambiente

($20 \pm 2^\circ\text{C}$). Una vez atemperada, se vierten en un embudo de decantación 25 ml de leche cruda, 20 ml de etanol y 5 ml de amoníaco, mezclándolo ligeramente.



Figura 3: material y reactivos usados en la extracción de las grasas.

Seguidamente añadir 25 ml de dietil éter y agitar vigorosamente el embudo durante un minuto. Se deja en reposo y se espera a que se produzca la separación de fases (unos 15 minutos). En ese momento, añadir 25 ml de n-Pentano y volver a mezclar, se dejan pasar unos 15 minutos para que se vuelva a producir la separación de fases y se descarta la fase inferior acuosa.

En el mismo embudo de decantación se vierten 25 ml de sulfato de sodio al 10% y se mezcla durante un minuto. Esperar hasta la separación de fases y descartar la fase inferior. Volver a repetir el mismo proceso.

La fase orgánica que permanece en el embudo de decantación se traspasa a un matraz erlenmeyer, en que previamente se han añadido 5 g de sodio sulfato anhidro. Agitar con movimientos circulares y dejar en reposo durante 10-15 minutos. Filtrar el contenido del matraz mediante un embudo con papel de filtro, en un matraz balón. Para eliminar el disolvente, se coloca dicho matraz en un Rotovapor, con baño, cuyas condiciones de temperatura serán de $40\text{-}50^\circ\text{C}$.

Una vez se ha evaporado todo el disolvente de la muestra, hay que tratar con flujo de nitrógeno durante aproximadamente un minuto y transvasar la grasa a viales de vidrio con cierre hermético.

Metilación de los ácidos grasos.

También llamada derivatización, la metilación de los ácidos grasos consiste en la recuperación de los mismos. El método utilizado es el que corresponde a la Norma ISO 15884:2002/IDF 182:2002.

Se pesan 100 mg de la muestra de extracción en un tubo Pirex. Se añaden 5 ml de hexano y 0,2 ml de reactivo de transesterificación (KOH). Agitar durante un minuto en el agitador Vortex y posteriormente dejar un tiempo de reacción adicional de 5 minutos. Una vez pasado este tiempo, se añaden 0,5 g de Sodio sulfato monohidrato, y se volverá a colocar el tubo en el agitador durante otro minuto.

Una vez preparadas todas las muestras, se colocan los tubos en la centrifuga durante 3 minutos a una velocidad de 350 g y por último, se toma una alícuota del sobrenadante y se coloca en viales de cromatografía, que serán los que se lleven al cromatógrafo.

Cromatografía de gases

La cromatografía es una técnica capaz de separar compuestos en base a diferencias de su afinidad por una fase estacionaria y una móvil. Separa los componentes de una mezcla basándose en la distinta velocidad de difusión de los mismos al atravesar dicha fase estacionaria cuando son arrastrados por la fase móvil.

La fase estacionaria se dispone generalmente dentro de una columna como relleno o depositada sobre la pared interior de la misma. La fase móvil está integrada por la mezcla y los componentes después de su separación. En la cromatografía de gases la separación se realiza en el tiempo, en base a un gradiente de temperaturas, ya que los distintos componentes de una mezcla presentan una amplia gama de temperaturas de ebullición que permite diferenciarlos.

En este trabajo, los ácidos grasos de la leche de oveja fueron determinados con cromatografía gaseosa, según la Norma ISO 15885:2002/IDF 184:2002.

Equipo y condiciones analíticas

Se empleó un cromatógrafo de gases FISSON (Milán, Italia) modelo 8160 dotado de un muestreador automático AS 800 con inyector en modo 'split' y un detector de ionización de llama (FID).



Figura 4: cromatógrafo utilizado en el ensayo.

Los ésteres metílicos se separaron en una columna capilar DF-FFAP (J&W Scientific, CA, USA) de 30 m de longitud y 0,25 mm de diámetro interno, y una temperatura máxima de trabajo de 250 °C. El gas portador fue hidrógeno a una presión de entrada de 40 KPa. En el detector FID las presiones de trabajo para el hidrógeno y el aire fueron 60 y 90 KPa respectivamente.

La inyección de 1 µl de muestra se realizó con una relación de split de 1/30 a 240 °C de temperatura. La separación de ésteres metílicos se realizó en 40 minutos aproximadamente y comenzó con una temperatura inicial de 50 °C que se mantuvo durante 4 minutos, seguida de un gradiente de 7°C/minuto hasta alcanzar los 230 °C, manteniéndose durante 25 minutos para volver posteriormente a las condiciones iniciales. La temperatura del detector fue de 240 °C.

En la obtención de los resultados de las áreas de los ésteres metílicos de ácidos grasos, se empleó el software Chrom-Card de que dispone el cromatógrafo de gases utilizado.

Evaluación de los resultados

Los ácidos grasos se reconocen dentro de una muestra por el tiempo de retención. Según si los AG son de cadena más corta (del C2:0 al C10:0) o si son de mayor peso molecular (del C12:0 al C18:0), se utilizará el ácido heptanoico o el tridecanoico respectivamente como patrones internos.

Para la determinación cuantitativa de cada uno de los ácidos grasos, es necesario aplicar los factores de recuperación y los factores de corrección cromatográficos. Los porcentajes de las áreas correspondientes a cada ácido graso fueron calculados por el integrador que posee el cromatógrafo, previa eliminación de las áreas correspondientes a los disolventes y reactivos utilizados en el método analítico.

3.1.5. Análisis estadístico

Para estudiar los factores de variación que afectan a la composición de los ácidos grasos, se realizó un análisis de varianza mediante el PROC MIXED del paquete estadístico SAS. El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + NL_j + E_k + O_n (R_i * NL_j) + E_k * R_i + R_i * NL_j + E_k * NL_j + e_{ijk}$$

Siendo:

Y_{ijk} = variable dependiente

μ = media general

R_i = Raza ($i=1$, Guirra; $i=2$, Manchega)

NL_j = número de lactación ($j=1$, primera lactación; $j=2$, segunda lactación o mayor)

E_k = Etapa de lactación ($k=1$, semana 1-3; $k=2$, semana 4-6; $k=3$, semana 7-11; $k=4$, semana 12-15; $k=5$, semana 16-18)

$O_i (R_i \times N_j)$ = Oveja dentro de una raza y un número de lactación

$E_k * R_i$ = Interacción de la etapa de lactación y la raza

$R_i * NL_j$ = Interacción entre la raza y el número de lactación

$E_k * NL_j$ = Interacción entre la etapa de lactación y el número de lactación

e_{ijk} = error residual

3.2. Ensayo 2

3.2.1. Animales

Para la elaboración de este trabajo se utilizaron 48 ovejas (35 de raza Guirra y 13 de raza Manchega) pertenecientes al rebaño experimental de ganado ovino del Departamento de Ciencia Animal. De éstas, 18 eran de primera lactación (9 Guirras y 9 Manchegas) y 30 eran de segunda o más lactaciones (24 Guirras y 6 Manchegas).

El sistema de producción utilizado fue de lactancia natural con un período de cría de 6 semanas. Después del destete los animales fueron ordeñados 2 veces al día (a las 8:00 y a las 17:00) hasta el final de la lactación. Para el ordeño se dispuso de una sala tipo CASSE con 2 plataformas de 12 ovejas cada una y 6 unidades de ordeño en línea alta.

Durante el periodo de lactación, la alimentación se realizó siguiendo las recomendaciones del I.N.R.A (1988). La ración diaria se componía de heno de alfalfa (1,5 Kg), pulpa de naranja (2 Kg/animal) y cantidades variables de concentrado (\cong 1 Kg) para adaptarse a las necesidades de los animales a lo largo de la lactación. El concentrado contenía un 60% de cereales (maíz, cebada y avena) y un 40% de leguminosas (habas, veza y guisantes).

3.2.2. Diseño experimental

Para la realización de este segundo ensayo se tomaron muestras en dos momentos de la lactación, tal y como se ve en la figura 5.

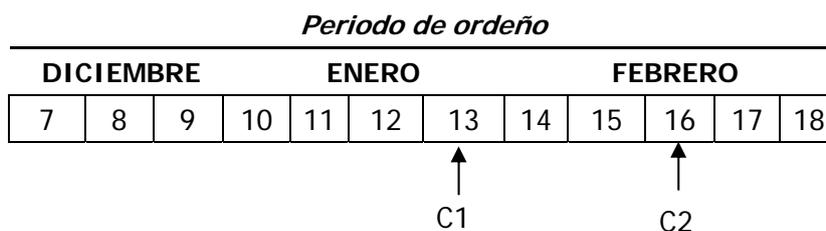


Figura 5: Calendario experimental del ensayo 2.

3.2.3. Toma y manipulación de las muestras

La toma y posterior manejo de las muestras se llevó a cabo igual que en el primer ensayo.

3.2.4. Metodología analítica

Tanto la composición de la leche como el perfil de ácidos grasos se hicieron igual que en el primer ensayo.

3.2.5. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante el PROC MIXED del paquete estadístico SAS. El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + R_i + N_j + E_k + O_l (R_i \times N_j) + R_i \times N_j + R_i \times E_k + N_j \times E_k + E_k \times O_l (R_i \times N_j) + e_{ij}$$

Siendo:

Y_{ij} = Variable dependiente

μ = Media general.

A_i = Año ($i=1$, año uno; $i=2$, año dos)

R_j = Raza ($j=1$, Guirra; $j=2$, Manchega)

N_k = Número de lactación ($k=1$, primera lactación; $k=2$, segunda lactación)

E_l = Estado de lactación ($l=1$, semana 12-15; $l=2$, semana 16-18)

$O_m (R_j \times N_k)$ = Oveja dentro de una raza y un número de lactación

$R_j \times N_k$ = Interacción de la raza y el número de lactación

$R_j \times E_l$ = Interacción de la raza y el estado de lactación

$N_k \times E_l$ = Interacción del número de lactación y el estado de lactación

$E_l \times O_m (R_j \times N_k)$ = Interacción de la raza y de la oveja (dentro de una raza y un número de lactación)

e_{ij} = error residual.

4. Resultados

4.1. Ensayo 1. Composición de la grasa láctea en toda la lactación.

4.1.1. Efecto raza

El efecto de la raza durante toda la lactación sobre la producción de leche, el contenido en grasa y el perfil de ácidos grasos se expone en la tabla 3. Las ovejas de raza Guirra respecto a las Manchegas tienen una menor producción de leche (- 256 ml/día, $P < 0,03$) y un mayor contenido en grasa (+ 0,50%, $P < 0,03$).

Existe una relación inversa entre la producción de leche y el contenido en grasa, presentando coeficientes de correlación negativos (Molina *et al.*, 1994). Así, a medida que avanza la lactación, disminuye la producción de leche y aumenta el contenido en grasa (Cappio-Borlino *et al.*, 1997; Pugliese *et al.*, 2000). También, las razas más productivas, tienden a presentar menor contenido en grasa.

En la composición de la grasa láctea, los ácidos grasos más abundantes por orden de importancia en ambas razas fueron: C16 (28,26%), C18:1(n9) (17,83%), C14 (12,70%), C10 (11,21%), C18 (7,82%), C12 (6,36%) y C4 (4,11%), que en conjunto representan el 88,3% de todos los ácidos grasos identificados.

Esta secuencia es diferente a la obtenida en ovejas Manchegas por Caballero *et al.* (1991) y Requena *et al.* (1996), debido probablemente a la diferencia en la alimentación, que en el presente trabajo se basa en cítricos enteros de destrío y en los trabajos anteriores utilizan pasto natural, en el primero de ellos, y pulpa de naranja y bagazo de cerveza en el segundo. Ambos trabajos encuentran que el C16 y el C18:1 son los más abundantes, con una composición muy similar (22%), seguidos del C18 (8,4%), del C14 (8,2%).

Sin embargo, la composición de ácidos grasos encontrados por otros autores, como Bouattour (2007) en ovejas de raza Lacaune y Masucci. *et al.* (2006) en ovejas de raza Sarda, sigue la misma secuencia que la obtenida en el presente trabajo, con el C16 como AG más abundante (27%), seguido del C18:1 (18%), el C14 (13%), el C10

(9-8,5%), el C18 (10-9%) y el C12 (5%). También Nudda *et al.* (2005) encuentran estos mismos ácidos grasos como los más abundantes, siendo las concentraciones muy similares.

Las diferencias más importantes en el perfil de ácidos grasos de la leche entre ovejas Guirras y Manchegas se produce en los ácidos grasos de 6 a 12 carbonos, precisamente los más característicos de la leche de oveja. Los lípidos de la leche en la oveja Guirra presentan un menor contenido que las Manchegas en Caproico -C6- (-0,21%, $P < 0,01$) caprílico -C8- (-0,36%, $P < 0,01$), cáprico -C10- (-1,11%, $P < 0,01$) y laúrico -C12- (-0,55%, $P < 0,05$). En cambio, en la leche de Guirra se observa un mayor contenido en ácido esteárico -C18- (+1,35%, $P < 0,01$) y ácido araquidónico -C20:4(n6)- (+0,04%, $P < 0,01$).

En conjunto, la leche de oveja Guirra presenta un menor contenido en AG de cadena corta que la de la Manchega (-0,68%, $P < 0,05$) y se observa también esta tendencia en los AG de cadena media (-1,6%, $P = 0,09$). En cambio, los AG de cadena larga se encuentran en mayor proporción en la leche de oveja Guirra (+2,28%, $P < 0,05$) que en la de Manchega. A pesar de estas diferencias, el contenido de la leche en SAT, INSAT, MUFA y PUFA no difieren significativamente ($P > 0,05$) entre ambas razas. El índice de aterogenicidad, considerado como un indicador del riesgo de sufrir enfermedades coronarias debidas a la acción aterogénica de ciertos AG saturados (Ulbricht *et al.*, 1991), tampoco difiere significativamente entre ambas razas.

Los valores obtenidos para los AG de cadena corta (hasta 8 carbonos), media (de 10 a 16) y larga (más de 18) (CC:CM:CL) son similares a los encontrados por otros autores, como Papadopoulos *et al.* (2002) con ovejas Karagouniko (12:55:33) y Reynolds *et al.* (2006) en ovejas de raza Hampshire x Dorset (10:57:33), que son parecidos a los obtenidos en el presente trabajo.

Según algunos autores, como Bauman *et al.* (2006) y Cabiddu *et al.* (2006), algunos ácidos grasos saturados no son perjudiciales para la salud, como por ejemplo el butírico y el esteárico. En el presente estudio, se observa que el ácido butírico no difiere entre razas, en cambio, el ácido esteárico es significativamente mayor (+1,35%, $P < 0,005$) en la raza Guirra con respecto a la Manchega.

Tabla 3. Efecto de la raza Guirra vs. Manchega sobre la producción de leche (ml/día), contenido en grasa (%), composición de ácidos grasos (%) en toda la lactación.

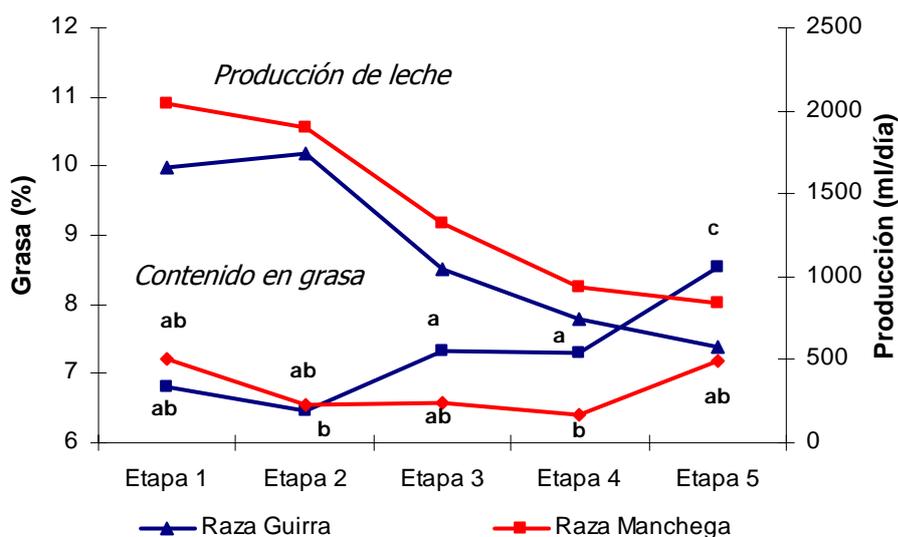
Variable	(%)		Sig. Estadística (P<)
	Raza Guirra n=94	Raza Manchega n=67	
LTD (ml)	1152,34±74,70	1408,62±90,56	0,03
Grasa	7,29± 0,14	6,79± 0,17	0,03
4:0	4,10±0,10	4,12±0,12	ns
6:0	3,31±0,05	3,52±0,06	0,007
8:0	3,17±0,06	3,53±0,08	0,001
10:0	10,61±0,20	11,72±0,24	0,002
12:0	6,09±0,16	6,64±0,19	0,04
14:0	12,52±0,18	12,89±0,22	ns
14:1	1,02±0,03	1,02±0,03	ns
16:0	28,48±0,36	28,04±0,43	ns
16:1	0,89±0,03	0,88±0,03	ns
18:0	8,50±0,29	7,15±0,34	0,005
18:1(n9)	18,28±0,37	17,38±0,45	ns
18:1(n7)	0,25±0,01	0,23±0,01	ns
18:2	1,99±0,06	2,07±0,08	ns
18:3(n6)	0,11±0,008	0,10±0,009	ns
18:3(n3)	0,29±0,01	0,29±0,01	ns
20:1(n9)	0,14±0,009	0,13±0,01	ns
20:4(n6)	0,22±0,008	0,18±0,01	0,002
20:5(n3)	0,02±0,005	0,01±0,006	ns
CC	10,60±0,18	11,28±0,22	0,02
CM	59,60±0,60	61,20±0,72	ns
CL	29,79±0,62	27,51±0,73	0,02
Saturados	76,75±0,43	77,69±0,52	ns
Insaturados	23,23±0,45	22,29±0,53	ns
MUFA	20,64±0,42	19,62±0,50	ns
PUFA	2,64±0,07	2,68±0,09	ns
Índice de aterogenicidad ⁽¹⁾	3,88±0,11	4,10±0,13	ns

⁽¹⁾ Índice de aterogenicidad: $(C12 + 4 \times C14 + C16) / \Sigma$ AG insaturados (Chilliard *et al.*, 2003).
CC (cadena corta)= C4-C8 ; CM (cadena media)= C10-C16 ; CL (cadena larga)≥ C18

4.1.2. Efecto etapa de lactación

Entre los factores estudiados en este trabajo, la etapa de lactación es la principal fuente de variación de la producción lechera ($P < 0,001$) y del contenido en grasa de la leche ($P < 0,01$). La interacción de la raza con la etapa de lactación no fue significativa ($P > 0,05$) para la producción de leche, pero sí fue significativa ($P < 0,05$) para el contenido en grasa.

En la figura 6 se han representado las curvas de lactación de las ovejas Guirras y Manchegas, así como la evolución del contenido en grasa de la leche. Se observa que la producción de leche es menor en la raza Guirra que en la Manchega desde el inicio de la lactación, y en ambas razas la producción desciende de forma similar con el avance de la lactación.



Etapa 1: semanas 1-3; etapa 2: semanas 4-6; etapa 3: semanas 7-11; etapa 4: semanas: 12-15; etapa 5: semanas 16-18

Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

Figura 6: Curvas de lactación en ovejas Guirras y Manchegas y evolución del contenido en grasa de la leche.

Sin embargo, el contenido en grasa de la leche evoluciona de forma distinta en cada raza. En las dos primeras etapas, que se corresponden con el periodo de cría, el contenido en grasa es similar en las dos razas, pero a partir de la tercera etapa, que incluye el periodo de ordeño, los valores de la raza Guirra tienden a ser más altos que

en la Manchega, siendo significativamente superiores en las etapas cuarta ($P < 0,01$) y quinta ($P < 0,001$). En esta figura se observa la tendencia opuesta que se da en la evolución de la producción de leche y su contenido en grasa.

La composición de la grasa láctea también se ve muy afectada por la etapa de lactación, como se observa en la tabla 4. El contenido total en ácidos grasos de cadena corta es el más estable a lo largo de la lactación, tiende a reducirse en las etapas finales, pero únicamente en la última etapa de ordeño su valor es inferior significativamente ($P < 0,01$) a las 3 primeras etapas. Sin embargo, los ácidos grasos de cadena media y larga experimentan cambios significativos ($P < 0,001$) en cada etapa de lactación. Los de cadena media aumentan a medida que avanza la lactación y los de cadena larga disminuyen.

Esta evolución en el perfil de ácidos grasos concuerda con los resultados obtenidos en ganado ovino por Gajdusek *et al.* (1992), y en ganado vacuno, por Palmquist *et al.* (1993). Estos autores indican que los valores elevados de ácidos grasos de cadena larga al inicio de la lactación, se deben a la movilización de reservas grasas corporales en esta etapa de balance energético negativo y su incorporación a la leche.

También los ácidos grasos saturados e insaturados presentan cambios importantes ($P < 0,001$) durante la lactación. En los primeros se observa una tendencia de aumento progresivo desde el inicio al final de la lactación y en los segundos se da una tendencia opuesta de descenso continuado en las sucesivas etapas de lactación. Así, la relación saturados:insaturados pasa de 2,92 en la primera etapa a 4,34 en la última etapa. Este descenso de insaturados se debe a los MUFA, ya que los PUFA varían muy poco en toda la lactación. Esta evolución en los componentes de la grasa láctea concuerda con los resultados de Requena *et al.* (1999) en ovejas Manchegas, quienes indican que la leche de la primera mitad de la lactación produciría un queso con características sensoriales diferentes al queso elaborado con la leche de la última parte de la lactación.

El índice de aterogenicidad de la leche aumenta significativamente ($P < 0,001$) durante la lactación, de modo que su valor al final del periodo de ordeño casi duplica el valor al inicio de la lactación (incremento del 91%), por ello, se puede afirmar que la

leche de la primera mitad de la lactación es más saludable desde el punto de vista nutritivo.

La evolución de los ácidos grasos individuales en las etapas de la lactación se ha representado en las figuras 7, 8, 9, 10 y 11. A excepción del C8, C18:2 y C20:5(n3), todos los ácidos grasos han alterado significativamente su contenido durante la lactación, sin embargo, la interacción de la raza con la etapa de lactación no fue significativa ($P > 0,05$) en ningún caso. Esto indica que la evolución del contenido en ácidos grasos de la leche en las distintas etapas de la lactación sigue un mismo patrón tanto en ovejas Guirras como en Manchegas.

Tabla 4. Efecto de la etapa de lactación en la composición de ácidos grasos (%) de la leche de oveja, durante toda la lactación.

Variable	Etapa 1 n=32	Etapa 2 n=34	Etapa 3 n=34	Etapa 4 n=33	Etapa 5 n=28	Sig. Estad. (P<)
CC	11,42±0,32 ^a	11,04±0,31 ^a	11,56±0,30 ^a	10,78±0,32 ^{ab}	9,89±0,38 ^b	0,004
CM	52,18±0,83 ^a	57,14±0,79 ^b	59,15±0,79 ^c	64,78±0,82 ^d	68,75±0,86 ^e	0,001
CL	36,42±0,92 ^a	31,68±0,89 ^b	29,02±0,89 ^c	24,51±0,90 ^d	21,61±0,99 ^e	0,001
Saturados	73,45±0,67 ^a	75,38±0,63 ^b	76,84±0,64 ^b	79,50±0,66 ^c	80,95±0,70 ^c	0,001
Insaturados	26,55±0,68 ^a	24,62±0,66 ^b	23,02±0,66 ^b	20,49±0,67 ^c	19,11±0,73 ^c	0,001
MUFA	23,91±0,64 ^a	21,92±0,61 ^b	20,52±0,60 ^b	17,71±0,63 ^c	16,59±0,68 ^c	0,001
PUFA	2,67±0,10	2,69±0,10	2,62±0,11	2,80±0,11	2,53±0,11	ns
Índice de Aterogenicidad ⁽¹⁾	2,85±0,16 ^a	3,34±0,16 ^b	3,66±0,16 ^b	4,63±0,16 ^c	5,45±0,17 ^d	0,001

⁽¹⁾Índice de aterogenicidad: $(C12 + 4 \times C14 + C16) / \Sigma$ AG insaturados (Chilliard *et al.*, 2003).

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

Etapa 1: semanas 1-3; etapa 2: semanas 4-6; etapa 3: semanas 7-11; etapa 4: semanas: 12-15; etapa 5: semanas 16-18

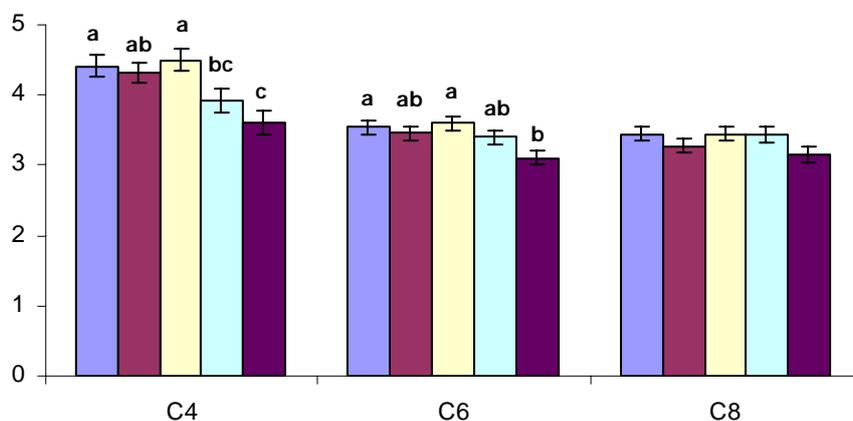
CC (cadena corta)= C4-C8 ; CM (cadena media)= C10-C16 ; CL (cadena larga)≥ C18

Entre los ácidos de cadena corta (figura 7), se observa en C4 y C6 una tendencia descendente ($P < 0,001$), mientras que los niveles de C8 se mantienen uniformes en toda la lactación.

En los ácidos de cadena media (figuras 8 y 9), se comprueba que las proporciones de todos los ácidos grasos tienden a aumentar significativamente

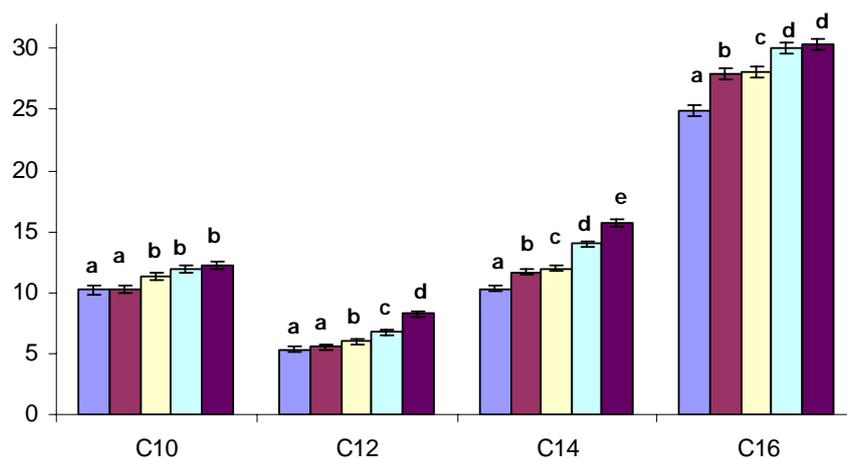
($P < 0,001$) a medida que progresa la lactación, sin embargo, Requena *et al.* (1999) observaron que C12 y C16 solamente aumentaban hasta la semana 12 de lactación, reduciéndose posteriormente al final de la lactación.

En los ácidos de cadena larga (figuras 10 y 11), los ácidos mas abundantes (C18 y C18:1(n9)) descienden significativamente ($P < 0,001$) en cada etapa de lactación, pero el C18:2 apenas varía en toda la lactación. Entre los ácidos minoritarios (cuya proporción es inferior al 0,5%) se dan tendencias diversas a lo largo de la lactación: unos disminuyen (C18:1(n7)) y C20:4(n6)), otro aumenta (C18:3(n3)) y el resto (C18:3(n6), C20:1(n9) y C20:5(n3)) no presentan una tendencia clara.



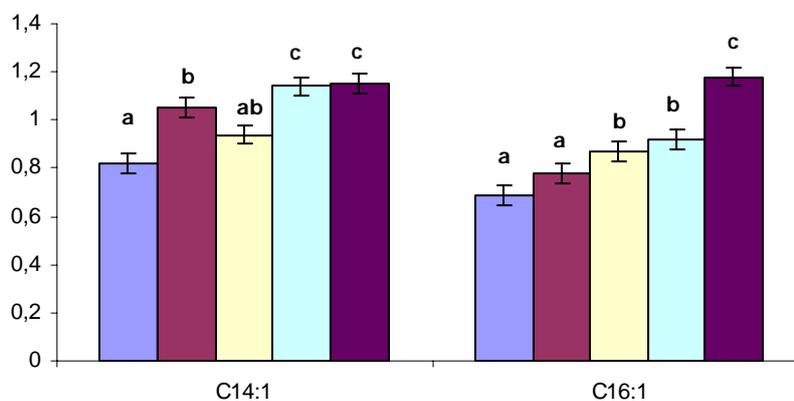
Etapa 1 (■): semanas 1-3; etapa2 (■): semanas 4-6; etapa 3 (■): semanas 7-11; etapa 4 (■): semanas: 12-15; etapa 5 (■): semanas 16-18.
 Letras distintas en un mismo ácido graso indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

Figura 7. Efecto de la etapa de lactación sobre el contenido en los distintos ácidos grasos (%) de cadena corta en la grasa de la leche



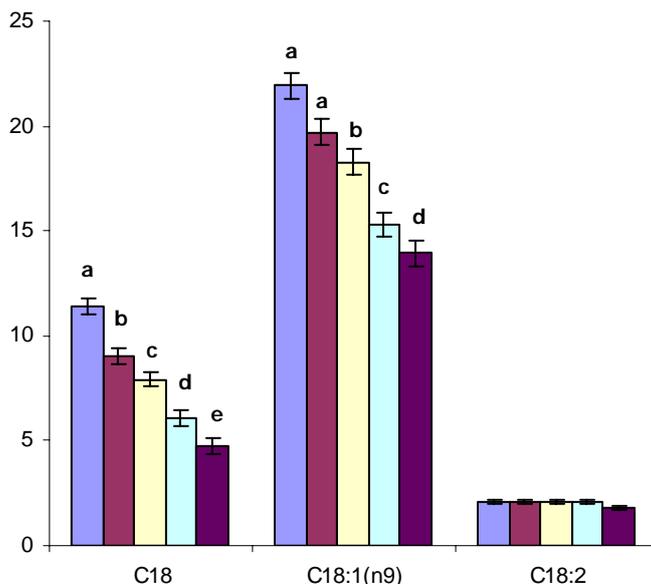
Etapa 1 (■): semanas 1-3; etapa2 (■): semanas 4-6; etapa 3 (■): semanas 7-11; etapa 4 (■): semanas: 12-15; etapa 5 (■): semanas 16-18.
 Letras distintas en un mismo ácido graso indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

Figura 8. Efecto de la etapa de lactación sobre el contenido en los distintos ácidos grasos (%) mayoritarios de cadena media en la grasa de la leche



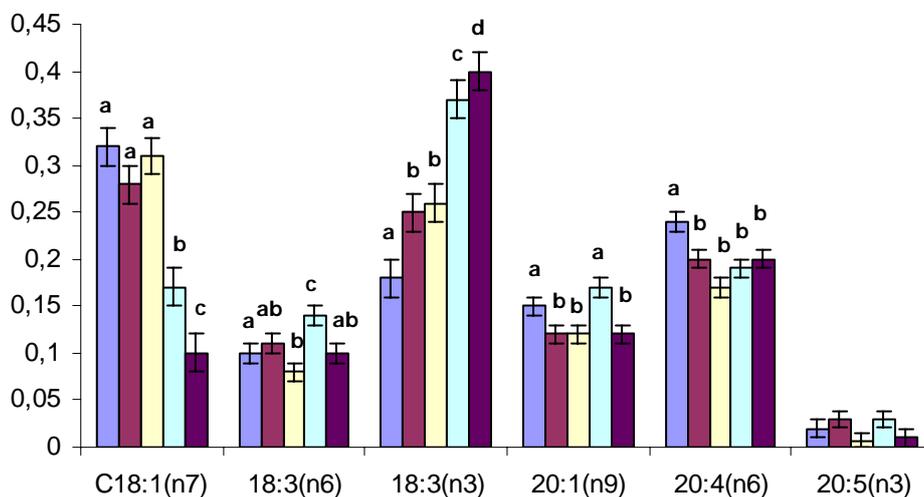
Etapa 1 (■): semanas 1-3; etapa2 (■): semanas 4-6; etapa 3 (■): semanas 7-11; etapa 4 (■): semanas: 12-15; etapa 5 (■): semanas 16-18.
 Letras distintas en un mismo ácido graso indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

Figura 9. Efecto de la etapa de lactación sobre el contenido en los distintos ácidos grasos (%) minoritarios de cadena media en la grasa de la leche



Etapa 1 (■): semanas 1-3; etapa2 (■): semanas 4-6; etapa 3 (■): semanas 7-11; etapa 4 (■): semanas: 12-15; etapa 5 (■): semanas 16-18.
 Letras distintas en un mismo ácido graso indican diferencias significativas (P<0,05)

Figura 10. Efecto de la etapa de lactación sobre el contenido en los distintos ácidos grasos (%) mayoritarios de cadena larga en la grasa de la leche



Etapa 1 (■): semanas 1-3; etapa2 (■): semanas 4-6; etapa 3 (■): semanas 7-11; etapa 4 (■): semanas: 12-15; etapa 5 (■): semanas 16-18.
 Letras distintas en un mismo ácido graso indican diferencias significativas (P<0,05)

Figura 11. Efecto de la etapa de lactación sobre el contenido en los distintos ácidos grasos minoritarios de cadena larga en la grasa de la leche

4.1.3. Efecto del número de lactación

El número de lactación de las ovejas (primera *vs* dos o más lactaciones) no afectó significativamente ($P>0,05$) a la producción de leche ni al contenido en grasa (Tabla 5).

En la composición de la grasa, se observaron diferencias entre las ovejas primíparas respecto a las de segunda o más lactaciones. En toda la lactación las primeras presentaron un menor contenido en AG de cadena media (-2,12%, $P<0,05$) y SAT (-1,30%, $P<0,05$) y tendieron a presentar una mayor proporción en AG de cadena larga, INSAT y MUFA ($P=0,059$, $P=0,053$, $P=0,08$, respectivamente). Como resultado de estas diferencias, la calidad nutritiva de la leche fue mejor en las ovejas de primera lactación, cuyo índice de aterogenicidad resultó más bajo (-0,36, $P<0,05$) que en las ovejas adultas (2 ó más lactaciones).

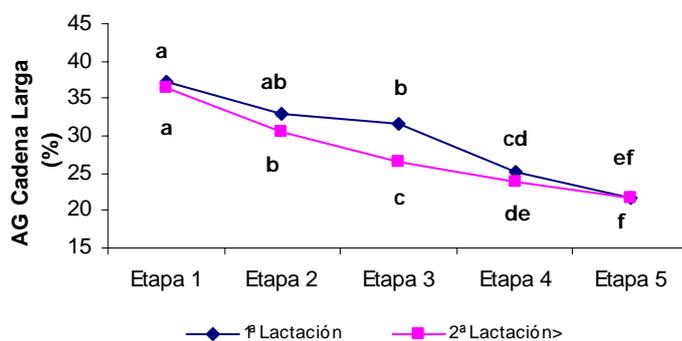
Tabla 5. Efecto del número de lactación sobre la producción de leche (ml/día), contenido en grasa (%) y composición de ácidos grasos (%) en leche de oveja en toda la lactación.

Variable	Lactación 1 n=61	Lactación 2 ó más n=100	Sig. Estadística (P<)
LTD	1211,35±93,21	1349,61±72,12	ns
Grasa	6,99±0,17	7,08±0,13	ns
CC	11,10±0,23	10,77±0,17	ns
CM	59,28±0,75	61,40±0,58	0,03
CL	29,67±0,76	27,81±0,58	0,059
Saturados	76,44±0,50	77,74±0,39	0,048
Insaturados	23,54±0,51	22,22±0,40	0,053
MUFA	20,80±0,49	19,68±0,38	ns
PUFA	2,79±0,09	2,54±0,07	0,04
Índice de Aterogenicidad ⁽¹⁾	3,80±0,14	4,16±0,10	0,04

⁽¹⁾ Índice de aterogenicidad: $(C12 + 4 \times C14 + C16) / \Sigma$ AG insaturados (Chilliard *et al.* 2003).
CC (cadena corta)= C4-C8 ; CM (cadena media)= C10-C16 ; CL (cadena larga)≥ C18

Se observaron interacciones significativas ($P < 0,05$) del número de lactación con la etapa de lactación en los AG de cadena larga (figura 12), en los SAT (figura 13), INSAT (figura 14), MUFA ($P < 0,01$) y en el IA ($P < 0,01$) (Figura 15).

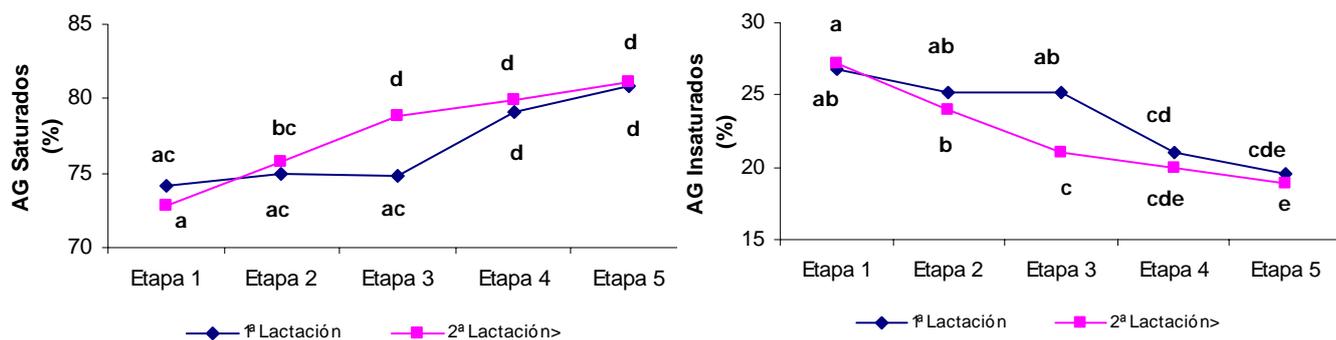
Estas interacciones consisten en que en la primera etapa de ordeño (etapa 3) las ovejas de primera lactación presentaron una mayor proporción de AG de cadena larga, más INSAT y un menor IA, pero en el resto del periodo de ordeño (etapas 4 y 5) y en el periodo de cría (etapas 1 y 2) tuvieron valores similares.



Etapa 1: semanas 1-3; etapa 2: semanas 4-6; etapa 3: semanas 7-11; etapa 4: semanas: 12-15; etapa 5: semanas 16-18

Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

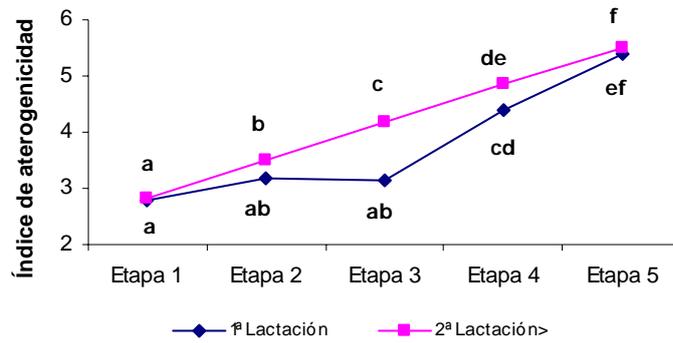
Figura 12. Interacción de la etapa con el número de lactación de las ovejas en cuanto al porcentaje de ácidos grasos de cadena larga en la leche



Etapa 1: semanas 1-3; etapa 2: semanas 4-6; etapa 3: semanas 7-11; etapa 4: semanas: 12-15; etapa 5: semanas 16-18

Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

Figuras 13 y 14. Interacción de la etapa con el número de lactación de las ovejas en cuanto al porcentaje de ácidos grasos saturados e insaturados en la leche.



Etapa 1: semanas 1-3; etapa 2: semanas 4-6; etapa 3: semanas 7-11; etapa 4: semanas: 12-15; etapa 5: semanas 16-18

Letras distintas indican diferencias significativas (P<0,05)

Figura 15. Interacción de la etapa con el número de lactación de las ovejas en el índice de aterogenicidad de la leche.

4.2. Ensayo 2. Composición de la grasa láctea en la segunda mitad de la lactación.

Este ensayo se realizó en una segunda lactación entre la semana 12 y 18 de lactación, que abarca las dos últimas etapas consideradas en el ensayo 1. Tiene como finalidad corroborar los resultados del ensayo anterior sobre las diferencias observadas entre ovejas Guirras y Manchegas.

4.2.1. Efecto año

El efecto del año experimental sobre la producción de leche, el contenido en grasa y su composición se expone en la tabla 6. La producción de leche no difiere significativamente ($P > 0,05$) en los dos años, pero el contenido en grasa es mayor (+1,64%, $P < 0,05$) en el segundo año. La composición de la grasa láctea en este segundo año, presenta un menor contenido en ácidos grasos de cadena corta (-0,83%, $P < 0,05$) y cadena media (-9,06% $P < 0,01$) y un mayor contenido en ácidos de cadena larga (+10,22%, $P < 0,01$) que en el primer año.

Puesto que se utilizó el mismo rebaño en las dos lactaciones consecutivas que han sido analizadas y el manejo fue idéntico en las dos, con la única diferencia de la composición de la dieta (con naranja de destrío en la primera lactación y con pulpa de naranja en la segunda), cabe atribuir las diferencias observadas en el perfil de ácidos grasos a un efecto de la alimentación sobre la composición de la grasa.

Tabla 6. Efecto del año sobre la producción de leche (ml/día), contenido en grasa (%) y composición de ácidos grasos (%) en leche de oveja en la segunda mitad de la lactación.

Variable	Año		Sig. Estadística (P<)
	1 n=73	2 n=61	
LTD	844,46±35,09	772,45±38,76	ns
Grasa	7,28±0,21	8,92±0,19	0,02
C4	3,80±0,08	3,42±0,07	ns
C6	3,27±0,04	3,07±0,04	ns
C8	3,32±0,06	3,05±0,05	ns
C10	12,05±0,22	9,91±0,20	0,02
C12	7,45±0,18	5,35±0,17	0,02
C14:0	14,70±0,23	12,60±0,21	0,02
C14:1	1,15±0,02	0,27±0,02	0,000
C16:0	30,02±0,42	28,14±0,37	ns
C16:1	1,03±0,04	1,29±0,03	0,04
C18:0	5,54±0,26	8,73±0,24	0,01
18:1(n9)	14,72±0,42	21,22±0,32	0,007
18:1(n7)	0,14±0,01	0,40±0,01	0,006
C18:2	1,91±0,08	1,65±0,07	ns
C18:3(n3)	0,38±0,02	0,38±0,02	ns
C20:1(n9)	0,15±0,02	0,54±0,02	0,006
CC	10,39±0,14	9,56±0,13	0,05
CM	66,47±0,64	57,41±0,59	0,008
CL	22,85±0,64	33,07±0,59	0,007
Saturados	80,20±0,47	74,28±0,43	0,01
Insaturados	19,80±0,47	25,72±0,43	0,01
IA ⁽¹⁾	5,02±0,13	3,30±0,12	0,01

⁽¹⁾IA(Índice de aterogenicidad):(C12 + 4 x C14 + C16)/Σ AG insaturados (Chilliard *et al.* 2003).
CC (cadena corta)= C4-C8 ; CM (cadena media)= C10-C16 ; CL (cadena larga)≥ C18

4.2.2. Efecto raza

En la tabla 7 se observa que la raza Guirra presenta una producción inferior a la Manchega (-178,97 ml/día, P<0,01), pero a diferencia del ensayo anterior el contenido en grasa no difiere significativamente (P>0,05) entre ambas razas. Estos mismos resultados fueron obtenidos por Rodríguez *et al.* (2006).

En la composición de la grasa, se observan las mismas tendencias que se vieron en el ensayo 1, las ovejas Guirras presentan menor contenido en AG de cadena corta y

media que las Manchegas y mayor contenido de cadena larga. Sin embargo la proporción de saturados es menor en las ovejas Guirras (-1,34%, $P < 0,05$), que aumentan los ácidos insaturados y tienden a presentar ($P = 0,09$) un IA menor que las Manchegas. Este resultado es interesante por los efectos beneficiosos que puede tener en la salud humana el consumo de productos lácteos con menor IA (Chilliard *et al.*, 2003).

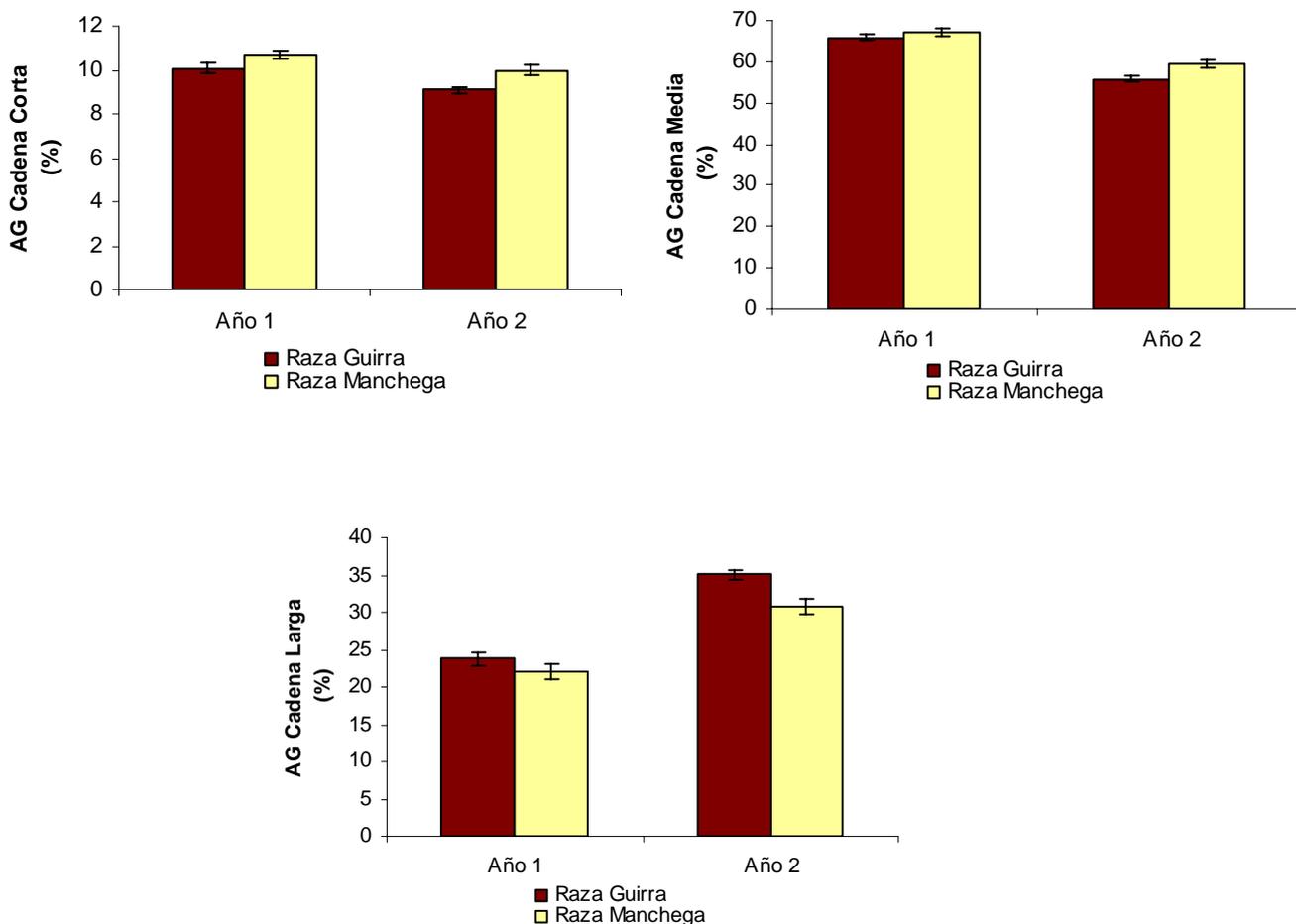
Tabla 7. Efecto de la raza sobre la producción de leche (ml/día), contenido en grasa (%) y composición de ácidos grasos (%) en leche de oveja en la segunda mitad de la lactación.

Variable	RAZA		Sig. Estadística (P<)
	Guirra n=86	Manchega n=48	
LTD	718,97±34,32	897,94±42,52	0,002
Grasa	8,23±0,18	7,97±0,23	ns
C4	3,55±0,06	3,67±0,08	ns
C6	3,04±0,03	3,30±0,04	0,000
C8	2,99±0,05	3,37±0,06	0,000
C10	10,44±0,19	11,55±0,24	0,000
C12	6,13±0,16	6,67±0,20	0,04
C14:0	13,30±0,20	14,00±0,25	0,04
C14:1	0,69±0,01	0,73±0,02	ns
C16:0	29,16±0,36	29,00±0,45	ns
C16:1	1,11±0,03	1,22±0,04	0,04
C18:0	7,95±0,23	6,32±0,28	0,000
18:1(n9)	18,72±0,37	17,22±0,46	0,01
18:1(n7)	0,25±0,01	0,29±0,02	ns
C18:2	1,78±0,07	1,78±0,08	ns
C18:3(n3)	0,38±0,02	0,38±0,02	ns
C20:1(n9)	0,32±0,02	0,37±0,02	ns
CC	9,59±0,12	10,36±0,15	0,000
CM	60,64±0,57	63,24±0,69	0,005
CL	29,64±0,57	26,28±0,69	0,000
Saturados	76,57±0,41	77,91±0,52	0,04
Insaturados	23,43±0,41	22,09±0,52	0,04
IA ⁽¹⁾	4,01±0,11	4,33±0,14	ns

⁽¹⁾IA(Índice de aterogenicidad): $(C12 + 4 \times C14 + C16) / \Sigma$ AG insaturados (Chilliard *et al.* 2003).
CC (cadena corta)= C4-C8 ; CM (cadena media)= C10-C16 ; CL (cadena larga)≥ C18

La interacción de la raza con el año no fue significativa ($P < 0,05$) en ningún caso. Los valores de ácidos grasos de CC, CM y CL de las dos razas en cada año se han representado en las figuras 16, 17y 18 Se comprueba que, tanto en el primer año

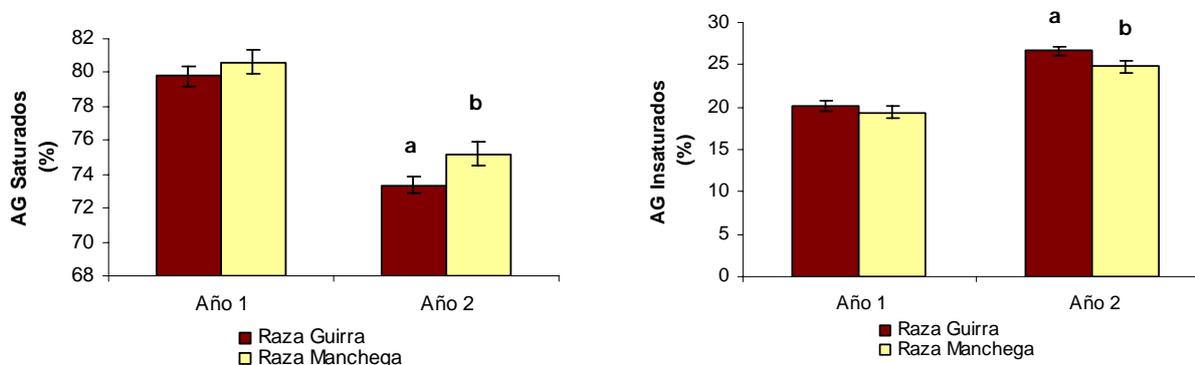
como en el segundo, se da la misma tendencia, la leche de las ovejas Guirras presenta menor contenido en ácidos grasos de cadena corta y media y mayor de cadena larga, con mayor proporción de ácidos insaturados que las Manchegas, tal y como se ve en las figuras 19 y 20.



Figuras 16 (AG cadena corta), 17 (AG cadena media) y 18 (AG cadena larga).

Evolución de los AG de cadena corta, media y larga en los dos años del experimento en la raza Guirra y Manchega.

AG Cadena Corta= C4-C8 ; AG Cadena Media= C10-C16 ; AG Cadena Larga \geq C18



Letras distintas en un mismo año indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

Figuras 19 y 20. Evolución de los AG saturados e insaturados en los dos años del experimento en la raza Guirra y Manchega

4.2.3. Efecto etapa

Los efectos de la etapa de lactación se exponen en la tabla 8. En la última etapa hay una menor producción de leche (-223,63 ml/día, $P < 0,001$), con un mayor contenido en grasa (+0,62%, $P < 0,001$) que en la etapa anterior. Esta grasa se caracteriza por tener menor proporción de AGCC (-0,45%, $P < 0,05$) y de AGCL (-2,49, $P < 0,001$), mayor proporción de AGCM (+2,96%, $P < 0,001$), de SAT (+1,23%, $P < 0,01$) y un IA más elevado (+0,54, $P < 0,001$) que en la etapa anterior. Estos resultados corroboran los que se observaron en el ensayo 1.

Las interacciones de la etapa con la raza y la etapa con el año no fueron significativas ($P > 0,05$), lo que indica que en todas las variables estudiadas la evolución de sus valores en las dos etapas son similares para cada raza, confirmándose las tendencias ya expuestas en el ensayo anterior.

Tabla 8. Efecto de la etapa de lactación sobre la producción de leche (ml/día), contenido en grasa (%) y composición de ácidos grasos (%) en leche de oveja en la segunda mitad de la lactación.

Variable	ETAPA		Sig. Estadística (P<)
	4 n=61	5 n=73	
LTD	920,27±32,51	696,64±30,49	0,000
Grasa	7,79±0,17	8,41±0,17	0,001
C4	3,66±0,08	3,56±0,07	ns
C6	3,24±0,04	3,09±0,04	0,01
C8	3,28±0,05	3,09±0,04	0,002
C10	11,04±0,19	10,93±0,18	ns
C12	6,13±0,17	6,67±0,15	0,000
C14:0	12,98±0,20	14,31±0,19	0,000
C14:1	0,67±0,01	0,75±0,01	0,000
C16:0	28,57±0,35	29,60±0,33	0,006
C16:1	1,09±0,04	1,23±0,04	0,02
C18:0	7,71±0,23	6,56±0,21	0,000
18:1(n9)	18,64±0,36	17,30±0,34	0,000
18:1(n7)	0,30±0,01	0,24±0,01	0,000
C18:2	1,84±0,07	1,73±0,06	ns
C18:3(n3)	0,35±0,02	0,41±0,02	0,02
C20:1(n9)	0,37±0,02	0,33±0,02	ns
CC	10,20±0,15	9,75±0,13	0,02
CM	60,46±0,57	63,42±0,53	0,000
CL	29,21±0,57	26,72±0,53	0,000
Saturados	76,67±0,42	77,80±0,38	0,01
Insaturados	23,33±0,42	22,19±0,38	0,01
IA ⁽¹⁾	3,90±0,12	4,44±0,11	0,000

⁽¹⁾IA(Índice de aterogenicidad): $(C12 + 4 \times C14 + C16) / \Sigma$ AG insaturados (Chilliard *et al.* 2003).
CC (cadena corta)= C4-C8 ; CM (cadena media)= C10-C16 ; CL (cadena larga)≥ C18

4.3.4. Efecto número de lactación

Los efectos del número de lactación sobre las variables estudiadas se han recogido en la tabla 9. Como sucedió en el ensayo 1, se observa que el número de lactación no afectó significativamente ($P > 0,05$) a la producción de leche, pero a diferencia del ensayo anterior, el contenido en grasa fue menor en las ovejas de primer parto (-0,78%, $P < 0,01$) que las adultas (2 ó más lactaciones).

Este resultado en producción de leche se justifica por la avanzada edad de las ovejas de primera lactación, de 2 a 2,5 años, superior a la edad habitual en otros rebaños. Aunque está bien documentado que las ovejas de primera lactación tienen menor producción lechera que las adultas y presentan menor contenido en grasa (Fuertes *et al.*, 1998; Othmane *et al.*, 2002), el efecto de la edad al primer parto, más próxima al estado adulto en este trabajo, ha reducido esas diferencias, lo que concuerda con los resultados de Gabiña *et al.* (1993).

La composición de la grasa en las ovejas de primera lactación, respecto a las adultas (2 ó mas lactaciones), presentó una mayor proporción de C4 (+0,24%, $P < 0,05$) y tendió a ser mayor el contenido en AG de cadena corta (+0,39%, $P = 0,05$). En los ácidos de cadena media, la proporción de C12 y C14 tendió a ser menor ($P = 0,06$) y C14:1 fue ligeramente menor (-0,04%, $P < 0,05$) en las ovejas de primera lactación. Los AG de cadena larga, SAT, INSAT y el IA no difieren significativamente ($P > 0,05$) entre animales de primera lactación y las adultas (2 ó más lactaciones), aunque se observa la misma tendencia descrita en el ensayo anterior.

Tabla 9. Efecto del número de lactación sobre la producción de leche (ml/día), contenido en grasa (%) y composición de ácidos grasos (%) en leche de oveja en la segunda mitad de la lactación.

Variable	Número de lactación		Sig. Estadística (P<)
	1 n=50	2 ó más n=84	
LTD	775,70±41,25	841,21±35	ns
Grasa	7,71±0,22	8,49±0,19	0,008
C4	3,73±0,08	3,49±0,06	0,03
C6	3,21±0,04	3,12±0,03	ns
C8	3,22±0,06	3,15±0,05	ns
C10	10,92±0,23	11,05±0,19	ns
C12	6,33±0,19	6,47±0,16	ns
C14:0	13,34±0,25	13,96±0,21	ns
C14:1	0,69±0,02	0,73±0,01	0,04
C16:0	28,12±0,44	29,44±0,37	ns
C16:1	1,13±0,04	1,20±0,03	ns
C18:0	7,36±0,28	6,90±0,23	ns
18:1(n9)	18,39±0,45	17,55±0,38	ns
18:1(n7)	0,27±0,02	0,27±0,01	ns
C18:2	1,80±0,08	1,76±0,07	ns
C18:3(n3)	0,40±0,02	0,36±0,02	ns
C20:1(n9)	0,34±0,02	0,36±0,02	ns
CC	10,17±0,15	9,78±0,15	0,05
CM	61,27±0,68	62,61±0,58	ns
CL	28,48±0,68	27,45±0,58	ns
Saturados	76,86±0,50	77,62±0,42	ns
Insaturados	23,14±0,50	22,38±0,42	ns
IA ⁽¹⁾	4,04±0,14	4,30±0,12	ns

⁽¹⁾IA(Índice de aterogenicidad): $(C12 + 4 \times C14 + C16) / \Sigma$ AG insaturados (Chilliard *et al.* 2003).

CC (cadena corta)= C4-C8 ; CM (cadena media)= C10-C16 ; CL (cadena larga)≥ C18

5. CONCLUSIONES

1. Las ovejas Guirras, respecto a las Manchegas, tienen una menor producción de leche, con mayor contenido en grasa.
2. La composición de la grasa láctea de las ovejas Guirras respecto a las Manchegas presenta un menor contenido en los ácidos grasos de cadena corta (caproico y caprílico) y media, y un mayor contenido en los ácidos grasos de cadena larga, con mayor proporción de ácidos insaturados.
3. La etapa de lactación tiene una gran importancia en el perfil de ácidos grasos de la leche. El contenido en ácidos grasos de cadena larga y cadena media sigue tendencias opuestas a lo largo de la lactación, los primeros disminuyen progresivamente, mientras que los segundos aumentan. Los AG de cadena corta varían poco en la primera mitad de la lactación, y se reducen durante la segunda mitad.
4. El índice de aterogenicidad de la leche aumenta a medida que progresa la lactación, con lo que se puede afirmar que la leche de las primeras etapas es nutritivamente más saludable.
5. El número de lactación de las ovejas influye en la composición de la grasa láctea. Las ovejas primíparas, respecto a las adultas (2 ó más lactaciones) presentaron un menor contenido en AG de cadena media y de saturados, así como un mejor índice de aterogenicidad de la leche.

6. BIBLIOGRAFÍA

Auldist, M.J.; Walsh, B.J.; Thomson, N. 1998. Seasonal and lactation influences on bovine milk composition in New Zealand. *J. Dairy Res.* 65, 401-411.

Auldist, M.J., Johnston, K.A., White, N.J., Fitzsimons, W.P., Boland, M.J. 2004. A comparison of the composition, coagulation characteristics and cheesemaking capacity of milk of Friesian and Jersey dairy cows. *J. Dairy Res.* 71, 51-57.

Bauman, D.E.; Mather, I.H.; Wall, R.J.; Lock, A.L., 2006. Major Advances Associated with the Biosynthesis of Milk. *J. Dairy Sci.* 89:1235-1243.

Bell, J.A., Griinari, J.M., and Kennelly, J.J. Effect of Safflower oil, flaxseed oil, monensin, and vitamin E on concentration of conjugated linoleic acid in bovine milk fat. *J. Dairy Sci.* 89:733-748. 2006

Bencini, R.R. 2002. Factors affecting the clotting properties of sheep milk. *J. of the Science of Food and Agriculture* 82, 705-719.

Bloor, W.R. 1943. Biochemistry of the fatty acids and their compounds, the lipids. In: American Chemical Society Monograph Series. Reinhold Publishing Corporation, 330 West Forty-Second Street, New York, U.S.A.

Bocquier, F., Caja, G. 2001. Production et composition du lait de brebis: effets de l'alimentation. *Prod. Anim.* 14, 129-140.

Bouattour, M.A.; Casals, R.; Albanell, E.; Such, X. y Caja, G. Efectos de la utilización de semillas o de aceite de linaza sobre el contenido en CLA de la leche de ovejas Lacaune. SEOC, 2006, Zamora.

Bouattour, M.A., 2007. Efectos de la utilización de diferentes fuentes de grasa vegetal para incrementar el ácido linoleico conjugado en leche de pequeños rumiantes e interacción con enzimas fibrolíticas. Tesis doctoral.

Caballero, R., Riopérez, J., Fernández, E., Amigo, L., Fontecha, J. 1991. On-farm supplements for lactating Manchega ewes grazing sown irrigated pastures. Milk composition. *Arch. Zootech.* 40: 3-14

Cabiddu, A., Addis, M., Pinna, G., Decandia, M., Sitzia, M., Piredda, G., Pirisi, A., Molle, G., 2006. Effect of corn and beet pulp based concentrates on sheep milk and cheese fatty acid composition when fed Mediterranean fresh forages with particular reference to conjugated linoleic acid cis-9, trans-11. *Animal Feed Science and Technology* 131, 292-311.

Cappio-Borlino, A., Portolano, B., Todaro, M., Macciotta, N.P.P., Giaccone, P., Pulina, G. 1997. Lactation curves of Valle del Belice dairy ewes for yields of milk, fat, and proteína estimated with test day models. *J. Dairy Sci.* 80:3023-3029.

Casals, R., 1992. Efectos de la utilización de lípidos protegidos en la alimentación de ovejas de ordeño durante los periodos de lactación y cubrición. Tesis Doctoral de la Facultat Veterinaria de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Chilliard, Y. 1993. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs and rodents: A review. *J. Dairy Sci.* 76:3897-3931.

Chilliard, Y., Doreau, M. 1997. Influence of supplementary fish oil and rumen-protected methionine on milk yield and composition in dairy cows. *J. Dairy Res.*, 64: 173:179.

Chilliard, Y., Ferlay, A., Mansbridge, R.M., Doreau, M. 2000. Ruminant milk plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann Zootech*, 49: 181-205.

Chilliard, Y., Ferlay, A., Doreau, M. 2001. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science* 70, 31-48.

Chilliard, Y., Ferlay, A., 2004. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod. Nutr. Dev.* 44, 467-492.

Chilliard, Y., Rouel, J., Ferlay, A., Bernard, L., Gaborit, P., Raynal-Ljutovac, K., Lauret, A., Leroux, C. 2006. Optimising goat milk and cheese fatty acid composition. Pages 281-232 in: *Improving the fat content of foods*. C. Williams and J Buttriss (ed.). Woodhead Publishing Limited. Cambridge, UK.

Christie, W.W. 1995. Composition and structure of milk lipids. In: *Advanced Dairy Chemistry-2 (Lipids)*(Fox, P.F., Hrgs.). Chapman & Hall, London. 1-36.

Delacroix-Buchet, A., Lamberet, G., 2000. Sensorial properties and typicity of goat dairy products. 7th Int. Conf. on Goats, Tours, France. 15-21 May 2000. Tome 2:559-563.

Dewhurst, R.J., Shingfield, K.J., Lee, M.R.F., Scollan, N.D., 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Animal Feed Science and Technology*, 131, 168-206.

Dhiman, T.R., Satter, L.D., Pariza, M.W., Galli, M.P., Albright, K., Tolosa, M.X., 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.* 83, 1016-1027.

Dhiman, T.R., Nam, S., Ure, A. 2005. Factors affecting Conjugated Linoleic Acid Content in milk and meat. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45: 463-482 .

EUROSTAT, 2006. Milk and milk products balance sheet. Disponible en: <http://epp.eurostat.ec.europa.eu>.

FAOSTAT. 2006. World milk production. Disponible en <http://faostat.org>

Federación Internacional De Lechería (F.I.L.). 1981. Determination of fat content. Norma 105 B: 8 pp.

Federación Internacional De Lechería (F.I.L.), 2001. Milk and milk products. Extraction methods for lipids and liposoluble compounds. FIL-IDF 172/ ISO 14156. International Standard. International Dairy Federation. Bruselas. Bélgica.

Federación Internacional De Lechería (F.I.L.), 2002. Milk fat. Preparation of fatty acid methyl esters. International Standard. FIL-IDF 182/ ISO 15824. International Dairy Federation. Bruselas. Bélgica.

Federación Internacional De Lechería (F.I.L.), 2002. Milk fat. Determination of the fatty acid composition by gas-liquid chromatography. International Standard FIL-IDF 184/ ISO 15885. International Dairy Federation. Bruselas. Bélgica.

Fernández-García, E., Carbonell, M., Calzada, J., Núñez, M. 2006. Seasonal variation of the free fatty acids contents of Spanish ovine milk cheeses protected by a designation of origin: A comparative study. *International Dairy Journal*, 16 (252-261).

Fox, P.F., Wallace, J.M. 1997. Formation of flavour compounds in cheese. *Advances in Applied Microbiology*, 45, 17-85.

Fuertes, J., Gonzalo, C., Carriedo, J, San Primitivo, F., 1998. Parameters of test Day Milk Yield and Milk Components for Dairy Ewes. *Journal of Dairy Science* Vol. 81, N° 5: 1300-1307

Gabiña, D., Arrese, F., Arranz, J., Heredia, B., 1993. Average milk yields and environmental effects on Latxa sheep. *Journal of Dairy Science*, 76: 1191-1203

Gajdusek, S., 1992. Changes in proportion of fatty-acids in the fat of sheep milk during lactation. *Zivocisna Vyroba*, 37 (2): 165-175.

Gulatti, S.K., Byers, E.B., Byers Y.G., Ashes, J.R., Scott, T.W. 1997. Effect of feeding different fat supplements on the fatty acid composition of goat milk. *Anim. Feed Sci. Technol.* 66:159-164.

Haenlein, G.F., 2001. Past, present, and future perspectives of small ruminant research. *J. Dairy Sci.* 84, 2097-2115.

Jaeggi, J.J., Wendorff, W.L., Romero, J., Berger, Y.M., Johnson, M.E. 2005. Impact of seasonal changes in ovine milk on composition and yield of a hard-pressed cheese. *J. Dairy Sci.* 88, 1358-1363.

Jensen, R.J., 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *J. Dairy Sci.* 85:295-350.

Kelsey, J.A., Corl, B.A., Collier, R.J. and Bauman, D.E. 2003. The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:2588-2597.

Kitessa, S.M., Gulati, S.K., Ashes, J.R., Fleck, E., Scott, T.W., Nichols, P.D. 2001. Utilisation of fish oil in ruminants I. Fish oil metabolism in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 89:189-199.

Lawless, F., Stanton, C., L'Escorp, P., Devery, R., Dillon, P., Murphy, J.J. 1999. Influence of breed on bovine milk cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid content. *Livestock Production Science*, 62, 43-49.

Luengo, C. 2001. En: www.ehu.es/biomoléculas/LIP/LIPID3.htm

Masanori Semma. 2002. Trans Fatty Acids: properties, benefits and risks. *Journal of Health Science*, 48(1) 7-13.

Masucci, F., Di Francia, A., Romano, R., Maresca di Serracapriola, M.T., Lambiase, G., Varricchio, M.L., Proto, V., 2006. Effect of *Lupinus albus* as protein supplement on yield, constituents, clotting properties and fatty acid composition in ewes' milk. *Small Ruminant Research* 65, 251-259.

Milner, J.A. 2000. Functional foods: the US perspective. *Am. J. Clin. Nutr.* 71 (6 suppl.): 1654S-1659S.

Molina, P., Gallego, L. 1994. Composición de la leche: Factores de variación. 191-208. En: *Ganado Ovino. Raza Manchega*. Torres, A. y Cala, G. (Eds.) Ediciones Mundi-prensa. Madrid (España).

Morand-Fehr, P., Fedele, V., Decandia, M., Le Frileux, Y. 2007. Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68, 20-34.

Noakes, M.; Nstel., P.J., Clifton, P.M., 1996. Modifying the fatty acid profile of dairy products through feedlot technology lowers plasma cholesterol of humans consuming the products. *Am. J. Clin. Nutr.* 63, 42-46.

Nudda, A., McGuire, M.A., Battacone, G., Pulina, G. 2005. Seasonal variation in conjugated linoleic acid and vaccenic acid in milk fat of sheep and its transfer to cheese and ricotta. *J. Dairy Sci.*, 88:1311-1319.

Nudda, A., Mele, M., Battacone, G., Usai, M.G., Macciota, N.P.P. 2003. Comparison of conjugated linoleic acid content in milk of ewes and goats with the same dietary regimen. *Ital.J.Anim.Sci.* 2 (Suppl. 1), 515-517.

Othmane, M.H., De La Fuente, L.F, Carriedo, J, San Primitivo, F., 2002a. Factors affecting test-day milk composition in dairy ewes, and relationships amongst various milk components. *Journal of Dairy Research* 69: 53-62.

Palmquist, D.L., Beaulieu, D. 1992. Differences between Jersey and Holstein cows in milk fat composition. *J. Dairy Sci.* 75 (Suppl. 1): 292 (Abstr.)

Palmquist, D.L. Beaulieu, D., Barbano, D.M., 1993. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci.* 76: 1753-1771.

Papadopoulos, G., Goulas, N., Apostolaki, E., Abril, R. Effects of dietary supplements of algae, containing polyunsaturated fatty acids, on milk yield and the composition of milk products in dairy ewes. *Journal of Dairy Research*, 2002.

Pugliese, C., Acciaioli, A., Rapaccini, S., Parisi, G., Franci, O. 2000. Evolution of Chemicals composition, somatic cell count and renneting properties of the milk of Massese ewes. *Small Ruminant Research* 35, 71-80.

Requena, R. 1996. Aplicación de la hormona del crecimiento (bST, Bovine somatotropina) en ganado ovino lechero. Tesis Doctoral. Universitat Politècnica de València.

Requena, R., Molina, P., Fernández, N., Rodríguez, M., Peris, C., Torres, A. 1999. Changes in milk and cheese composition throughout lactation in Manchega sheep. Proceeding of the Sixth International Symposium on the milking of small ruminants. Atenas, Grecia.

Reynolds, C.K., Cannon, V.L., Loerch, S.C. 2006. Effects of forage source and supplementation with soybean and marine algal oil on milk fatty acid composition of ewes. *Animal Feed Science and Technology* 131: 333-357.

Rodríguez, M., Guaita, B., Escolar, E., Palomares, J.L., Fernández, N. 2006. Estudio comparativo de la producción y composición de la leche ordeñada en la oveja Guirra y Manchega. *Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia*. 106-108.

Sevi, A., Abenzio, M., Marino, R., Santillo, A., Muscio, A. 2004. Effects of lambing Seaton and stage of lactation on ewe milk quality. *Small Ruminant Research* 51, 251-259.

Scintu, M.F., Piredda, G. 2007. Typicity and biodiversity of goat and sheep milk products. *Small Ruminant Research*, 68 (221-231).

Soryal, K., Beyene, F.A., Zeng, S., Bah, B., Tesfai, K. 2005. Effect of goat breed and milk composition on yield, sensory quality, fatty acid concentration of soft cheese during lactation. *Small Ruminant Research* 58, 275-281.

Ulbricht, T.L., Southgate, A.T. 1991. Coronary heart disease:Seven dietary factors. *Lancet* 338:985-992.

Volanis, M., Zoiopoulos, P., Tzerakis, K. 2004. Effects of feeding ensiled sliced oranges to lactating Dairy sheep. *Small Ruminant Research* 53, 15-21.

White, S.L., Bertrand, J.A., Wade, M.R. Washburn, S.P., Green, J.T., Jenkins, T.C. 2001. Composition of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ratio. *J. Dairy Sci.* 84:2295-2301.

Zhang, R., Mustafa, A.F., Zhao, X., 2006. Effects of flaxseed supplementation to lactating ewes on milk composition, cheese yield, and fatty acid composition of milk and cheese. *Small Ruminant Research* 63, 233-241.

Zullo, A., Barone, C.M.A., Chianese, L. Colatruglio, P., Occidente, M. Matassino, D. 2005. Protein polymorphisms and coagulation properties of Cilentana goat milk. *Small Ruminant Research* 58, 223-230.

TESIS DE MÁSTER

Título: Composición de ácidos grasos a lo largo de la lactación de la leche de oveja Guirra vs. Manchega

Presentado por: Elena Escolar Saval

Fe de erratas:

- **Resumen: párrafo 4º.**

Donde pone 'mutilación de ácidos grasos', debe poner 'metilación de ácidos grasos'.

- **Materiales y Métodos. Modelo estadístico del Ensayo 2.**

Modelo estadístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + R_j + NL_k + E_l + O_m(R_j \times NL_k) + R_j \times A_i + R_j \times NL_k + R_j \times E_l + A_i \times NL_k + A_i \times E_l + NL_k \times E_l + E_l \times O_m(R_j \times NL_k) + e_{ijkl}$$

Siendo:

Y_{ijkl} = Variable dependiente

μ = Media general.

A_i = Año ($i=1$, año uno; $i=2$, año dos)

R_j = Raza ($j=1$, Guirra; $j=2$, Manchega)

NL_k = Número de lactación ($k=1$, primera lactación; $k=2$, segunda lactación)

E_l = Estado de lactación ($l=1$, semana 12-15; $l=2$, semana 16-18)

$O_m(R_j \times NL_k)$ = Oveja dentro de una raza y un número de lactación

$R_j \times A_i$ = Interacción de la raza y el año

$R_j \times NL_k$ = Interacción de la raza y el número de lactación

$R_j \times E_l$ = Interacción de la raza y el estado de lactación

$NL_k \times E_l$ = Interacción del número de lactación y el estado de lactación

$A_i \times NL_k$ = Interacción del año por el número de lactación

$A_i \times E_l$ = Interacción del año por la etapa

$E_l \times O_m(R_j \times NL_k)$ = Interacción de la raza y de la oveja (dentro de una raza y un número de lactación)

e_{ijkl} = error residual