



Universidad de Valladolid
Campus de Palencia

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR
DE INGENIERÍAS AGRARIAS**

TRABAJO FIN DE MASTER

Calidad, Desarrollo e Innovación de los Alimentos

**INFLUENCIA DEL SISTEMA DE
EXPLOTACIÓN DEL GANADO OVINO
SOBRE LA CALIDAD DE LA LECHE**

Alumno/a: DAVID SANJUAN IGLESIAS

Tutor/a: ISABEL REVILLA MARTÍN

Cotutor/a: JOSÉ MANUEL RODRÍGUEZ NOGALES

Contenido

RESUMEN	1
ABSTRACT	1
1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	2
2. OBJETIVOS	9
3. MATERIAL Y MÉTODOS	10
3.1. MATERIAS PRIMAS	10
3.2. ÁCIDOS GRASOS	12
3.3. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	13
3.4. VITAMINAS	14
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	16
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
4.1. VITAMINAS	18
4.2. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	21
4.3. ÁCIDOS GRASOS	22
5. CONCLUSIONES	28
6. BIBLIOGRAFIA	29

RESUMEN

Estudios previos han demostrado cómo el perfil de ácidos grasos así como la composición en vitaminas liposolubles son los parámetros más afectados cuando se comparan sistemas de manejo ecológicos y convencionales, encontrando valores más altos en leche procedente de sistemas de manejo ecológicos en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados, ácido linoleico conjugado (CLA), linoleico, vaccénico, vitamina A (retinol) y vitamina E, todos ellos compuestos con demostrados efectos beneficiosos para la salud, aunque en ocasiones los resultados resultan contradictorios. También se ha encontrado una mayor actividad antioxidante en la leche procedente de sistemas ecológicos lo cual se relaciona directamente con el aumento de vitaminas y ácidos grasos insaturados. En leche de oveja los resultados son escasos pero los datos también apuntan hacia valores más elevados de ácidos grasos mono y poliinsaturados en leche ecológica. En el presente estudio se estudia cómo influye tanto el tipo de sistema de explotación utilizado: intensivo, semiintensivo, semiextensivo y ecológico, los cuales difieren en el grado de intensificación, sobre el perfil de ácidos grasos, la concentración vitaminas liposolubles y la actividad antioxidante de la leche así como su evolución a lo largo del año, para así poder evaluar la calidad de ésta.

ABSTRACT

Previous studies have shown a profile of fatty acids composition and the fat-soluble vitamins are the most affected parameters when organic and conventional systems are compared management, reporting increases in the content of polyunsaturated fatty acids, CLA, Linoleic, vaccenic, vitamin a (retinol) and vitamin E, all compounds with proven beneficial effects on health, in milk from organic management systems, but sometimes the results are contradictory. It has also been reported increased antioxidant activity in milk from ecological systems which is directly related to the increase in vitamins and unsaturated fatty acids. In sheep milk are scarce but the results are also reported higher levels of mono and polyunsaturated fatty acids in organic milk. This study explores how influences both the type of operating system used (intensive, semi-intensive, semi-extensive and ecological) and the degree of intensification on the profile of fatty acids, fat soluble vitamins concentration and antioxidant activity of milk and have an idea of the level of quality of this.

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

En los últimos años se ha producido un aumento de la conciencia pública sobre la relación entre la dieta y la salud, así como un mayor interés en el papel de la grasa en la dieta humana. En este sentido, la leche y los productos lácteos representan aproximadamente el 15-25 % de las grasas consumidas por los seres humanos (O'Donnell, 2003). Una gran cantidad de artículos científicos coinciden en que algunos de los ácidos grasos en los productos lácteos pueden afectar a la salud humana (Lock & Bauman, 2004). La grasa es el más variable de los componentes de la leche y la composición de ácidos grasos de la leche es muy diversa (MacGibbon & Taylor, 2006), debido a la presencia de más de 400 ácidos grasos distintos.

Por otro lado, las vitaminas A y E son micronutrientes solubles en grasa que juegan un papel importante en la salud, y la leche y los productos lácteos proporcionan una parte significativa de vitamina A, especialmente a lactantes y niños (Institute of Medicine, 2001).

Ambos grupos de compuestos tienen influencia sobre la capacidad antioxidante de la leche. Esta capacidad antioxidante es el resultado de un delicado balance entre los procesos anti- y prooxidativos. Así, aunque la Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox (TEAC) se asocia principalmente a las caseínas de la leche, otros compuestos de bajo peso molecular como el ascorbato y el urato, así como otros compuestos de la hierba fresca como los carotenoides y los tocoferoles, pueden ser transferidos desde la alimentación a la leche y de ese modo mejorar la estabilidad oxidativa de esta. Sin embargo, el aumento del contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) puede hacer que la leche sea más vulnerable a la oxidación (Barrefors, Granelli, Appelqvist, & Bjoerck, 1995; Charmley & Nicholson, 1995; Hermansen, 1995; Focant et al., 1998; Morales, Palmquist, & Weiss, 2000; Bugaud et al., 2001; Timmons, Weiss, Palmquist, & Harper, 2001).

La importancia de los ácidos grasos radica en la probada relación entre la composición en ácidos grasos de la dieta y la salud (Hayek et al, 1999; Hoffman et al, 2000; Ishiguro, 2002, Albers, 2003). En este sentido, el ácido linoleico (LA) y el ácido α -linolénico (α -LN) son ácidos grasos esenciales ya que no pueden ser sintetizados por el cuerpo humano (Stark et al., 2008) y además constituyen la mayor parte de los ácidos grasos n-6 y n-3 en la grasa de la leche. Varios estudios indican que el α -LN tiene efectos cardioprotectores (Albert et al., 2005; Djoussé et al., 2005). También se ha indicado que un aumento de los ácidos linoleicos conjugados (CLA) en la dieta

humana es beneficioso para la salud (Bhattacharya et al., 2006). El CLA y los ácidos grasos omega-3 pueden contrarrestar los efectos fisiológicos negativos de los ácidos grasos saturados (SFA). Además, uno de los isómeros del CLA, el CLA cis-9, trans-11 (CLA9), también se ha relacionado con propiedades anticancerígenas, con la reducción del riesgo de padecer diabetes tipo 2, las enfermedades cardiovasculares y con el refuerzo del sistema inmunitario.

Algunos ácidos grasos específicos están asociados potencialmente al fortalecimiento de las defensas inmunológicas y la prevención del asma, las alergias y las enfermedades cardiovasculares (Simopoulos, 2002; McLeod et al, 2004; Prescott & Calder, 2004; Frischke, 2006; Jacobson, 2006) y al desarrollo del sistema nervioso y de los ojos en niños (Richardson, 2004; Jensen et al, 2005).

Por el contrario, una alta ingesta de SFA constituye un factor de riesgo para el desarrollo de la obesidad, las enfermedades cardiovasculares, la alteración de la sensibilidad a la insulina y el síndrome metabólico. Además, hay algunos isómeros del CLA como el CLA trans-10, cis-12 (CLA10) que pueden tener un impacto negativo sobre la salud como se ha podido demostrar en cultivos celulares y en modelos de experimentación animal (Wahle, Heys & Rotondo, 2004).

La distribución de los ácidos grasos en la grasa de la leche depende de la composición de la dieta de los animales (Dewhurst et al., 2003). Las dietas basadas en pastos por ejemplo, suministran un nivel significativamente más alto de ácidos grasos insaturados que las dietas basadas en ensilados con fibra basada en el maíz, lo que se refleja en una menor concentración de SFA en la grasa de la leche procedente de dietas basadas en pastos (Bargo et al., 2006; Couvreur et al., 2006; Croissant et al., 2007). En particular, el ensilado de maíz contiene una alta concentración de ácido linoleico lo que afecta a la composición de la leche con un aumento de este ácido graso en ella (Walker et al., 2004). Por lo tanto, el cambio de alimentación del ganado va a modificar la composición de los ácidos grasos en la leche y en especial los PUFA.

Además de la dieta, existen también otros factores que pueden tener un efecto importante sobre los perfiles de ácidos grasos de la leche como son la raza/genotipo, la fase y el número de lactaciones. Los ácidos grasos insaturados de la dieta pueden ser sometidos a una hidrogenación por los microorganismos del rumen y los ácidos grasos de cadena larga pueden ser sometidos a la actividad desaturasa en la glándula mamaria (Dewhurst, 2005; Chilliard et al, 2007). El perfil de ácidos grasos de la leche, por lo tanto, está determinado principalmente por:

- El equilibrio de los ácidos grasos en la dieta.
- El grado de hidrogenación del rumen
- La actividad desaturasa mamaria.

Los niveles de CLA están vinculados al ácido α -linolénico y al ácido linoleico de la dieta. Sin embargo, mientras que el 70-90 % del CLA9 (70 % del CLA total) se genera a partir de la desaturación del ácido vaccénico en la glándula mamaria, todos los demás isómeros del CLA (incluyendo el CLA10) se generan como productos intermedios de la biohidrogenación del rumen y por lo tanto, se encuentran en cantidades mucho más bajas que el CLA9 en la leche (Chilliard et al, 2007)

A pesar de lo beneficiosas que son las grasas insaturadas, un aumento de la proporción de las mismas en la leche puede aumentar la susceptibilidad de esta a la oxidación que resulta en el desarrollo del mal sabor y la reducción de la vida útil de la leche y de los productos lácteos (Chen et al, 2004). Sin embargo, la calidad sensorial y la vida útil de la leche y los productos lácteos se determinan por el equilibrio entre ácidos grasos insaturados y los antioxidantes solubles en la grasa, los cuales protegen contra la oxidación y contra el desarrollo del mal sabor (Chen et al, 2004; Lynch et al, 2005).

Los antioxidantes solubles en grasa o vitaminas presentes en la leche, derivan de la dieta, ya sea a partir de los componentes naturales en piensos o forrajes, o de compuestos sintéticos añadidos como suplementos a la dieta del ganado lactante (Meglia, Jensen, Lauridsen & Waller, 2006). Los carotenoides derivados del forraje fresco están dominados por el β -caroteno principalmente pero también incluyen luteína, zeaxantina, criptoxantina, licopeno y α -caroteno. La principal actividad de la vitamina E en el forraje fresco está asociada con el isómero RRR del α -tocoferol (único isómero sintetizado por las plantas), con un poco de actividad asociada también con β -, γ - δ -tocoferol y α -, β -, γ - y δ -tocotrianol (Schneider, 2005)

Las altas concentraciones de α -tocoferol y β -caroteno en la leche pueden obtenerse a través de una alta proporción de pastos o de ensilados de trébol en la alimentación del ganado (Havemose et al., 2004) debido a que estos tipos de forraje son ricos en antioxidantes (Lynch et al., 2001).

Los sistemas de producción lechera más intensivos completan las dietas con minerales con propiedades y/o productos vitamínicos con vitaminas A (retinol), D₃ y E (α -tocoferol). En producción ecológica los suplementos están prohibidos (Soil Association Certification, 2005).

Se cree que la concentración de α -tocoferol y carotenoides en la leche es importante para su estabilidad a la oxidación. El tocoferol y el β -caroteno son capaces de eliminar los radicales peroxi y reaccionar con el oxígeno agotándolo. Sin embargo, hay resultados contradictorios en este campo ya que otros trabajos muestran el comportamiento prooxidativo del α -tocoferol cuando no hay coantioxidantes presentes como la coenzima Q (Thomas, Neuzil & Stocker, 1996), o cuando la concentración de grasa insaturada y α -tocoferol son muy elevadas (Slots, Skibsted & Nielsen, 2007).

Aunque los detalles de los procesos metabólicos que determinan perfiles de ácidos grasos de la leche no son predecibles en su totalidad, se reconoce que la manipulación de la dieta puede aumentar la proporción de ácidos grasos insaturados y vitaminas secretados en la leche (Givens & Shingfield, 2004; Lock & Bauman, 2004; Givens, 2006).

En España, los sistemas ganaderos difieren en el manejo y por lo tanto, en la dieta del ganado. En Castilla y León se pueden encontrar cuatro tipos de manejo: intensivo, semiintensivo, semiextensivo y ecológico (Rancourt et al, 2006).

Los sistemas de producción intensiva se caracterizan por un control completo sobre los animales seleccionados para una determinada aptitud, manteniendo el ganado estabulado la mayor parte del tiempo, generalmente bajo condiciones de temperatura, luz y humedad creadas de forma artificial con el objetivo de obtener altos rendimientos en el menor lapso de tiempo. En este sistema de explotación la carga ganadera es alta y el ganado se alimenta principalmente de alimentos enriquecidos (Rodríguez et al, 2013).

El sistema de producción ecológico se caracteriza por la mejora del bienestar animal y la salud a través de la prevención de la enfermedad, junto con la no utilización de productos químicos de síntesis (European Union, 2007). Se trata de un método para alcanzar precios más elevados para la producción ganadera y una manera de convencer a los consumidores de que se está dando un mejor tratamiento a los animales y al medio ambiente, ya que la ganadería ecológica supone utilizar los recursos ecológicos de una manera más sostenible (Edwards, 2005) siendo la vegetación natural el recurso pastoral primario, aunque la producción vegetal disponible para los animales por unidad de superficie y año es baja por lo que se requieren grandes superficies por explotación. Se trata por tanto de un tipo de sistema extensivo en el que las normas de la agricultura ecológica restringen el uso de concentrados y con una cantidad mayor de fibra en la dieta y una menor ingesta de

energía y proteínas de los concentrados, por lo que se suelen encontrar variaciones muy importantes en la producción y el valor nutritivo del pasto a lo largo del año (European Union, 2007; Nauta, Groen & Baars, 2001).

Los sistemas semiintensivo y semiextensivo son un tipo de sistema de explotación que presentan características tanto del sistema intensivo como del sistema extensivo. El ganado suele utilizar los pastos naturales entre 2 y 6 meses al año mientras que el resto del tiempo permanecen en zonas más próximas a la explotación y en periodo de estabulación, complementándose su alimentación con forrajes y concentrados en los momentos en que sus necesidades alimenticias son mayores: parto, parto y lactación. La diferencia entre ambos sistemas radica en el mayor o menor tiempo en que el ganado permanece pastando al aire libre. En el sistema semiextensivo el ganado pasa la mayor parte del tiempo pastando al aire libre mientras que en el sistema semiintensivo permanece estabulado la mayor parte del tiempo con cortos periodos al aire libre (Espejo, 1996) .

El tipo de explotación utilizada va a influir en la composición de la leche ya que un aumento, por ejemplo, de la ingesta de forraje fresco (Dewhurst, Shingfield, Lee & Scollan, 2006; Elgersma, Tamminga & Ellen, 2006) o el uso de aceites vegetales y suplementos de semillas oleaginosas (Dhiman, Anand, Satter & Pariza, 1999;. Collomb Schmid, Wechsler & Ryhanen, 2006;. Glasser, Ferlay & Chilliard, (2008) puede aumentar la cantidad de PUFA en la dieta de los rumiantes y aumentar la cantidad de α -linolénico, CLA y concentraciones totales de PUFA en la grasa de la leche. En contraste, la alimentación con forraje conservado reduce las concentraciones de PUFA nutricionalmente deseable (incluyendo CLA y α -linolénico) en la grasa de la leche y aumenta las concentraciones de SFA (Elgersma et al., 2003).

Esto da lugar a variaciones estacionales en el perfil de ácidos grasos en la leche de los sistemas lecheros que tienden a utilizar las dietas basadas en pastoreo durante el verano y las dietas de forrajes ensilados durante el período invernal bajo techo (Lock & Garnsworthy, 2003), observándose que la leche recogida durante el período de pastoreo tiene una mayor concentración de PUFA, como CLA9 y α -linolénico, en comparación con la leche producida durante el período invernal cuando el ganado fue alimentado con dietas a base de ensilado (Lock & Garnsworthy, 2003; Ellis et al. , 2006, Butler et al, 2008).

Comparando la composición de la leche de vaca procedente de sistemas de producción ecológico y convencional, Bloksma et al (2008) encontró niveles similares

de grasa total pero en la leche ecológica existían niveles más altos de CLA y ácidos grasos omega 3 como ya se había demostrado en otros estudios (Flachowsky, 2000; Bérgamo, Fedele, Lannibelli & Marzillo, 2003; Browning et al, 2005). Además, varios investigadores (Jensen et al, 1999; Robertson y Fanning, 2004; Nielsen y Lund-Nielsen, 2004; Browning, Melchett, & Leifert, 2005) han encontrado niveles más altos, o una tendencia hacia ellos, de un gran número de sustancias promotoras de la salud en la leche orgánica, tales como la vitamina E (α -tocoferol), β -caroteno (precursor de vitamina A) y otros antioxidantes (luteína y zeaxantina). Estos niveles más altos de CLA y omega 3 en la leche ecológica pueden ser explicados por la relación que existe entre la alimentación y ácidos grasos (Dhiman et al, 1999;. Jahreis et al, 1997;. Sait y Brunetti, 2003; Dewhurst et al., 2003, Witkowska, 2004).

En general los estudios indican que la leche y los productos lácteos procedentes de los sistemas de producción ecológicos certificados contienen concentraciones más altas de PUFA, α -linolénico y/o CLA, y de antioxidantes solubles en grasa que los sistemas de producción muy intensificados y con altos aportes de piensos convencionales. Sin embargo, un creciente número de granjas en Europa, Nueva Zelanda, Australia y América del Norte se están adaptando a métodos de producción con menores aportes externos (es decir, con una menor dependencia de piensos y concentrados) similares a los utilizados en agricultura ecológica, pero sin cumplir con todas las restricciones establecidas para esta última. Lo más importante es que estos sistemas utilizan fertilizantes minerales NPK pero en niveles más reducidos que los sistemas más intensivos. No está claro si este tipo de sistemas, de bajos aportes no orgánicos pueden proporcionar beneficios similares en la composición de la leche que los sistemas certificados como ecológicos.

Al comparar la leche de varios sistemas de producción, Butler (2008) observó que el contenido de grasa total de la leche obtenida durante el periodo al aire libre, con dietas basadas en forrajes frescos, fue mayor en el sistema de producción ecológico y semiextensivo que en el sistema intensivo. El porcentaje de SFA en la grasa láctea fue más bajo, mientras que los porcentajes de ácidos grasos Monoinsaturados (MUFA) y PUFA fueron mayores en los sistemas ecológicos en comparación con el sistema intensivo y significativamente mayores en el sistema semiintensivo. Los porcentajes de los ácidos grasos nutricionalmente deseables como el CLA9 fueron significativamente más altos mientras que los niveles totales de PUFA n-6 fueron significativamente más bajos en la leche tanto de los sistemas ecológicos como semiextensivo.

El CLA10 se encuentra en concentraciones bajas en la leche de todos los sistemas de producción sin verse afectada por este factor. Las diferencias entre los sistemas ecológico y no ecológico son generalmente más pequeñas que entre los sistemas intensivo y extensivo pero el porcentaje de CLA fue significativamente mayor en la leche no ecológica y el porcentaje de ácidos grasos n-6 fue significativamente mayor en los sistemas ecológicos.

Las concentraciones de la mayoría de antioxidantes fueron más altas en leche del sistema semiextensivo seguido del ecológico y del intensivo (más bajo) durante el periodo al aire libre. Las concentraciones del estereoisómero 2R del α -tocoferol no difirieron entre los sistemas aunque fueron ligeramente más bajos en los sistemas semiextensivo

Butler (2011) también mostró en otro estudio de que la leche ecológica contenía concentraciones más altas de los ácidos grasos beneficiosos que la leche convencional, incluyendo el total de PUFA, CLA9 y de ácido α -linoleico. También se observó el efecto de la estación, siendo la concentración de SFA menor en verano que en invierno y mayor la de los PUFA, CLA y α -linoleico.

Investigaciones como las de Ellis et al (2006), Butler et al (2008, 2011), Bérnago (2003), Kraft et al (2003), Collomb et al (2008) o Prandini et al (2009), sugieren que los ácidos grasos y los perfiles de antioxidantes en leche y productos lácteos de vacas ecológicas difieren de los producidos por vacas de manejo convencional pero las diferencias en la composición entre las leches es de carácter estacional con diferencias mínimas en la leche recogida en invierno.

2. OBJETIVOS

La composición de la leche se modifica cuando se cambia al pastoreo al aire libre por las dietas de interior basadas en el forraje en invierno como ocurre en los sistemas más intensificados. Sin embargo, poco se sabe si este cambio en la dieta afecta a la diferencia en la calidad de la leche entre los sistemas ecológicos y convencionales con manejos similares. También existe información limitada sobre las diferencias en la composición en ácidos grasos, vitaminas liposolubles y actividad antioxidante de la leche cuando se comparan sistemas convencionales con diferentes grados de intensificación, incluidos los sistemas de producción ecológica, y los pocos estudios disponibles se han centrado en el ganado bovino, mostrando además resultados contradictorios.

Los objetivos del estudio son, por tanto:

- Comparar la composición en ácidos grasos, vitaminas liposolubles y actividad antioxidante de la leche de oveja procedente de los cuatro sistemas de explotación diferentes y determinar si existe una influencia significativa del tipo de manejo sobre el contenido medio de dichos componentes.
- Seguir la evolución de los contenidos de ácidos grasos, vitaminas liposolubles y actividad antioxidante de los cuatro sistemas durante un periodo de un año para establecer el efecto de la estacionalidad sobre dichos parámetros.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. MATERIAS PRIMAS

En el presente estudio se analizó leche de ovejas lecheras de la raza Churra y Assaf recogidas durante un periodo de 12 meses de 20 explotaciones ganaderas de Castilla y León (Tabla 1), 2 explotaciones ecológicas, 5 semiextensivas, 5 semiintensivas y 8 intensivas. Cabe destacar que aunque las explotaciones ecológicas son solo dos, suponen el 80% de las ovejas lecheras certificadas como ecológicas en Castilla y León.

Los datos de manejo de cada sistema de explotación se encuentran recogidos en la Tabla 2.

Tabla 1: Raza, procedencia y tipo de explotación de los rebaños sometidos a estudio

Raza	Localidad	Tipo explotación
Assaf	Algadefa (León, Santiago)	Intensivo
Assaf	Algadefa (León, Dionisio)	Intensivo
Assaf	Laguna de Negrillos (León)	Intensivo
Assaf	Rebollar de los Oteros (León)	Intensivo
Assaf	Villeza (León)	Intensivo
Assaf	La Milla del Río (León)	Intensivo
Churra	Arenillas de Riopisuerga (Burgos)	Intensivo
Assaf	Zamora	Intensivo
Assaf	Villademor de la Vega (León)	Semi-intensivo
Assaf	Sahechores (León)	Semi-intensivo
Assaf	La Aldea del Puente (León)	Semi-intensivo
Assaf	Valdesaz de los Oteros (León)	Semi-intensivo
Assaf	Cedillo de la Torre (Segovia)	Semi-intensivo
Churra	Fresnillo de las Dueñas (Burgos)	Semi-extensivo
Churra	Villeras (Palencia)	Semi-extensivo
Churra	Torregamones (Zamora, Celestino)	Semi-extensivo
Churra	Torregamones (Zamora)	Semi-extensivo
Churra	Arlanzón (Burgos)	Semi-extensivo
Churra	Fariza (Zamora)	Semi-extensivo Ecológico
Churra	Barcina de los montes (Burgos)	Semi-extensivo Ecológico

En la Figura 1 se muestra el mapa de distribución de las distintas explotaciones ganaderas sometidas a estudio.

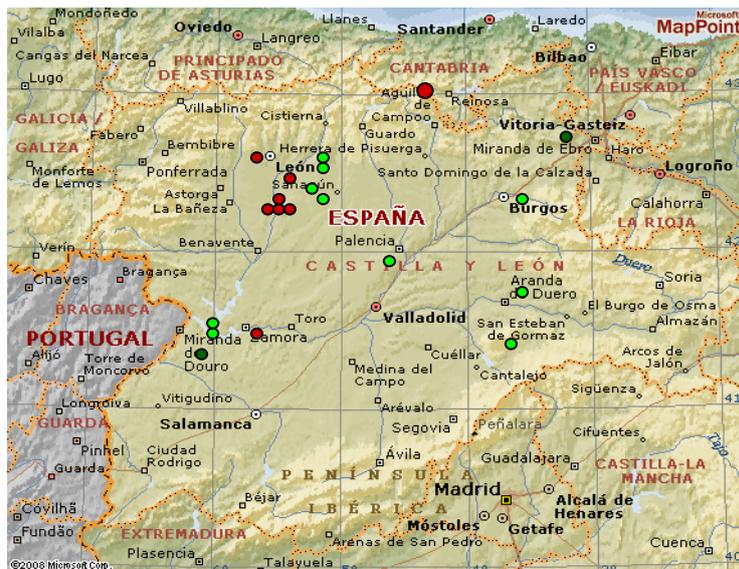


Figura 1: Mapa de distribución de las distintas explotaciones de ganado ovino sometidas a estudio. Rojo-Intensivo; Verde claro-Semiintensivo/Semiextensivo; Verde oscuro-Ecológico.

Tabla 2: Condiciones de manejo y alimentación del ganado en los distintos sistemas de explotación sometidos a estudio.

	SISTEMA DE PRODUCCIÓN							
	INTENSIVO		SEMIINTENSIVO		SEMIEXTENSIVO		ECOLÓGICO	
	media	desviacion	media	desviacion	media	desviacion	media	desviacion
Tamaño rebaño ovejas (uds)	902,667	363,946	666,800	230,742	743,500	457,641	686,500	301,935
PV(Kg)	74,667	2,582	74,600	1,517	56,750	5,560	51,500	0,707
Parideras al año (uds)	3,333	0,516	3,400	0,548	3,500	0,577	4,000	1,414
Ovejas primiparas (%)	0,212	0,034	0,180	0,034	0,183	0,029	0,195	0,035
Materia seca ingerida (Tn)	867769,218	516270,839	507686,197	210502,803	291618,996	159617,562	451987,406	7522,775
MSI/oveja/día (%)	2,754	1,075	2,163	0,819	1,751	1,939	1,990	0,845
Leche/oveja/año (L)	370,333	119,584	209,800	73,802	88,250	43,699	53,500	0,707
Forraje	0,636	0,145	0,542	0,316	0,839	0,074	0,650	0,196
Forraje fresco % materia fresca	0,000	0,001	0,028	0,028	0,286	0,452	0,222	0,108
Silo de Maiz (%)	0,237	0,270	0,014	0,030	0,000	0,000	0,035	0,049
Paja (%)	0,109	0,109	0,175	0,175	0,013	0,025	0,009	0,012
Alfalfa (%)	0,451	0,328	0,558	0,322	0,350	0,453	0,076	0,107
Forrajes (%)	0,199	0,173	0,205	0,218	0,337	0,417	0,658	0,038
Concentrado	0,364	0,145	0,376	0,205	0,161	0,074	0,350	0,196
Concentrado/oveja (%)	0,010	0,007	0,877	0,808	0,197	0,119	0,613	0,094
Cereales (%)	0,515	0,128	0,709	0,153	0,495	0,242	0,879	0,157
Concentrados proteicos (%)	0,356	0,192	0,211	0,123	0,187	0,043	0,000	0,000
Otros concentrados (%)	0,080	0,106	0,044	0,069	0,247	0,272	0,116	0,164
Suplementos (%)	0,044	0,025	0,030	0,021	0,076	0,064	0,019	0,009
Pienso corderas (%)	0,005	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Consumo verde (%)	1433,333	2801,190	10410,000	6166,685	130187,500	228165,088	241000,000	50911,688
Verde/oveja/día (%)	0,004	0,021	0,043	0,073	0,480	1,366	1,015	0,243
Concentrado comprado (%)	0,462	0,269	0,356	0,238	0,232	0,210	0,101	0,143
Forraje comprado (%)	0,123	0,117	0,168	0,144	0,012	0,015	0,119	0,168
Raza	Assaf		Assaf		Assaf		Churra	
Estabulación (%)	98,333	4,082	83,000	13,766	45,590	29,984	18,600	21,779

Alumno: David Sanjuan Iglesias

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID (CAMPUS DE PALENCIA) – E.T.S. DE INGENIERÍAS AGRARIAS

Titulación: MASTER EN CALIDAD, DESARROLLO E INNOVACIÓN DE LOS ALIMENTOS

3.2. **ÁCIDOS GRASOS**

La determinación cualitativa y cuantitativa de los ácidos grasos de la leche se realizó utilizando cromatografía gaseosa. La cromatografía es un método físico de separación basado en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija y otra móvil. En cromatografía gaseosa, la fase móvil es un gas que fluye a través de una columna que contiene a la fase fija.

Extracción de la grasa de la leche (ISO 14156:2001; IDF 172:2001)

En primer lugar se procedió a homogenizar la leche, para lo cual, se calentó la leche hasta 40 °C en un baño de agua y se dejó enfriar hasta 20 °C.

El procedimiento consistió en añadir en un embudo de decantación, 25 ml de leche, 20 ml de etanol al 96% y 5 ml de solución amónica 14M. A continuación se añadieron 25 ml de éter-etílico y se cerró el embudo para posteriormente agitar vigorosamente durante 1 minuto, abriendo la llave periódicamente para dejar escapar el gas generado. Se dejó reposar durante unos minutos y a continuación se añadieron 25 ml de n-pentano al 99% repitiendo de nuevo el proceso de agitación durante otro minuto más. Se dejó reposar la mezcla en el embudo hasta conseguir la completa separación de la fase orgánica de la fase acuosa y posteriormente se descartó la fase acuosa.

A continuación se añadieron 25 ml de solución de sulfato de sodio al 10 %, y se mezcló de nuevo durante un minuto. Se dejó reposar la mezcla y se descartó de nuevo la fase. Este paso se repitió una vez más para lavar bien la fase orgánica.

A continuación el contenido del embudo se pasó a un Erlenmeyer y se añadieron de 1 - 2 g de sulfato de sodio anhidro, mezclándolo bien para eliminar por completo cualquier resto de agua que pudiera quedar en la fase orgánica. Se dejó reposar durante 10 minutos y se filtró el contenido del matraz recogiendo el filtrado en un matraz esférico de rotavapor. Este filtrado se concentró en el rotavapor a 50°C quedándonos únicamente con la grasa de la leche. Finalmente, se pesaron 0,1 g de grasa en un vial de plástico.

Metilación de la grasa (Murrieta et al., 2003)

A los 0,1 g de grasa en el vial de plástico se le añadieron 2 ml de hidróxido potásico en metanol 0,2 M. Se agitó en un vortex durante 15-30 minutos, durante 3 segundos cada 5 minutos, manteniendo el contenido del vial a una temperatura de

50°C y a continuación, se enfrió el vial con agua fría. A continuación se añadieron al vial de plástico 3 ml de agua destilada y 2 ml de hexano al 96%. Se agitó durante 15 segundos el vial y se centrifugó en una centrífuga refrigerada a 10 °C y 2500 rpm durante 2 minutos. El sobrenadante se recogió con cuidado en un vial de vidrio preparado con una base de aproximadamente 1 mm de sulfato de sodio anhidro y por último se cerró el vial con una capsula de aluminio.

Análisis cromatográfico

El análisis se realizó en un Cromatógrafo de Gases 6890N dotado con un inyector automático 7683 (Agilent Technologies) Se utilizó una columna capilar de sílice de 100 m × 0,25 mm; 0,20 µm (Supelco, Inc., Bellefonte, PA, USA), según las condiciones descritas por Realini et al. (2004), aunque utilizando helio como gas portador. La jeringuilla utilizada como inyector fue de un volumen de 10 ml y el volumen de inyección de 1 µl. Para el lavado de la jeringuilla se realiza 1 pre-inyección de hexano, 2 pre-inyecciones de la muestra a analizar y una post-inyección de hexano. El cromatógrafo de gases trabajó en modo Split con un ratio Split de 20:1 y un flujo de 19,8 ml/min.

El horno del cromatógrafo debe estar inicialmente a 150 °C. Durante el análisis, las rampas de temperatura serán de la siguiente manera. La primera rampa se calentará 1°C /min durante 15 minutos hasta alcanzar 165°C. La segunda rampa se calentará 0,20°C /min durante 25 minutos hasta alcanzar 167°C. En la tercera y última rampa, se calentará 1,50°C/min hasta alcanzar 225°C y se mantendrá a esa temperatura 15 minutos hasta el final del análisis. El proceso finaliza transcurridos 78,67 minutos en total.

El detector del cromatógrafo es un detector FID (Flame Ionization Detector). Este trabajará a 250°C con un flujo de hidrógeno de 40 ml/min y un flujo de aire sintético de 250 ml/min. El flujo de la fase móvil (helio) será de 45 ml/min.

3.3. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La capacidad antioxidante de la leche se determinará mediante el método ABTS, que se basa en medir la capacidad de captación de radicales libres. Dichos radicales reaccionarán con la muestra y en virtud de la capacidad antioxidante de esta, se inhibirá la generación de los primeros. Se trata de un método directo en el que el radical se emplea como un factor de cuantificación. La adición del antioxidante

después de la generación del radical, provoca una disminución de la señal debido a la disminución de la concentración del radical.

Método ABTS (Chen et al, 2003)

El radical ABTS se obtiene tras la reacción de 0,0384 g de ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico) y 0,0066 g de persulfato de potasio en un matraz de 10 ml de agua destilada, a temperatura ambiente (± 25 °C) y en oscuridad durante 16 h. Una vez obtenido el radical ABTS se diluye con tampón fosfato (pH 7,4) hasta obtener una absorbancia comprendida entre 0,70 ($\pm 0,1$) a 750 nm. La muestra de leche se diluye 1/10 en un matraz aforado de 10 ml. Se añaden 2 ml del radical ABTS diluido en etanol en la cubeta de vidrio y posteriormente se le añaden 10 μ l de la dilución de leche. Se agita un poco y se mide la absorbancia de manera continuada durante 10 minutos anotando la absorbancia inicial y final.

El antioxidante sintético de referencia, Trolox (ácido-6-hidroxi-2, 5, 7, 8 tetrametilcromano-2-carboxílico), se ensaya en las mismas condiciones para realizar una recta de calibrado. Para ello, se mide la absorbancia a 750 nm de una cantidad creciente de Trolox en etanol (0,25 g/l) añadiendo a la cubeta de vidrio con 2 ml de tampón fosfato, desde 2 μ l hasta 60 μ l aumentando la cantidad 2 μ l en cada medición.

Expresión de los resultados

Los resultados se expresan en TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox).

La recta de calibrado obtenida es: $Y=7,3026X - 2,2883$ ($R^2=0,9974$).

X= concentración de Trolox g/l

Y= absorbancia

Con la absorbancia inicial y final de cada muestra y la recta de calibrado se obtiene la concentración inicial y final en equivalentes Trolox. Las diferencias entre la concentración final e inicial de todas las muestras se representaran gráficamente para ver su evolución a lo largo del tiempo.

3.4. VITAMINAS

Se procede en primer lugar a homogenizar la leche. Para ello, se calienta hasta 40 °C y se deja enfriar hasta 30 °C.

Se toman 1,5-2,0 ml de muestra y se somete a hidrólisis alcalina previa mediante el siguiente procedimiento. Añadimos 1,5 ml de una solución de ác. Ascórbico en etanol 0,3M y α -tocoferol (patrón interno en solución etanólica) en cantidad adecuada; agitamos la muestra durante unos 15 segundos en el vórtex y posteriormente añadimos 2 ml de hidróxido de potasio en metanol al 40 % y agitamos de nuevo en el vórtex durante 30 segundos. Esta mezcla se agita en baño a 70 °C y unas 200rpm durante 40 minutos. Con la intención de no prolongar esas condiciones una vez efectuada la hidrólisis, se para la reacción en baño a temperatura ambiente durante 3 minutos.

Para la extracción de las formas ya libres de retinol y tocoferol, se procede a añadirle una mezcla de dos disolventes orgánicos: el primero, n-hexano (al 0,01% de BHT) con diclorometano en proporción 5:1; el segundo, isopropanol, en una proporción de 4:1 con el anterior.

Se agita por inversión o en un agitador de muñeca durante un par de minutos. Para separar ambas fases nítidamente, se centrifuga con refrigeración la emulsión (5000 rpm, 4min). La fase acuosa se vuelve a someter a la extracción hasta cerrar el proceso 4 veces. Las fases orgánicas se recogen y reúnen, y se lavan con 3 ml de agua fría, con objeto de eliminar el hidróxido de potasio. Se vuelve a centrifugar 2 minutos a unas 2000 rpm y se deja reposar en frigorífico 5 minutos.

La fase orgánica se evapora bajo corriente de nitrógeno, cuidando de retirarlos cuando llegan a sequedad. Finalmente, el extracto se reconstituye en 1 ml de una mezcla de acetonitrilo/metanol 85:15.

Se filtra por un filtro de jeringa de 0,22 μ m de poro y se lleva al vial de inyección para el análisis cromatográfico.

El análisis cromatográfico se lleva a cabo en un equipo Acquity UPLC de Waters, dotado con un detector Fluorimétrico y un PDA en serie. Se utiliza una columna Acquity UPLC HSST3, de 1,8 μ m de partícula y dimensiones de 2,1X150 mm. Con dos métodos cromatográficos distintos. Para la resolución del retinol, se utilizó el siguiente método cromatográfico. En régimen isocrático, la fase móvil con estos constituyentes acetonitrilo:metanol (85:15) / isopropanol:agua (50:50) al 80/20. Para la detección fluorimétrica, $\lambda_{exc} = 325$ nm y la de Emisión, 475 nm. Para la separación de las distintas formas de tocoferol, la fase móvil es la siguiente. acetonitrilo:metanol (85:15) / isopropanol al 90/10. Para la detección fluorimétrica, $\lambda_{exc} = 295$ nm y la de Emisión, 330 nm.

Para ambos, el flujo será de 0,4 ml/min, y la temperatura de la columna, 35 °C. En serie, para el PDA se establecerá un rango de longitudes de onda de 275 a 465 nm. Esta detección se utilizará como control de calidad, de cara a descartar interferencias.

Con este tipo de columna y a estas presiones nos resulta imposible separar las formas α y γ de tocoferol. Se estima la mezcla cuantificándola con γ - α -tocoferol.

La pureza de todos los patrones utilizados se monitorizó periódicamente de mediante un espectrofotómetro UV-Vis, tal y como especifican las normas correspondientes. Estos patrones utilizados fueron: todo-trans-retinol, acetato de retinilo, palmitato de retinilo, γ -tocoferol, α -tocoferol y CMR 122 (Mantequilla fortificada con Vitaminas), certificado por el Institute for Reference Materials and Measurements del JRC.

NOTA: en el tiempo en el que se desarrolló esta parte del trabajo, no había Materiales de Referencia. Certificados más semejantes a la matriz a analizar comercialmente disponibles, por lo que adquirimos el único de producto lácteo disponible. Para el control de esta matriz se establecieron otros niveles de recuperación.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la realización del análisis estadístico de los datos obtenidos en los análisis del presente estudio se empleó el programa StatGraphics Centurión XVI.II para Windows (Statistical Graphics Corp., Virginia, USA).

Se realizó un análisis de varianza multivariable mediante la utilización del Modelo General Lineal (GLM) para conocer el grado de interacción que presentan los factores sistema de explotación y mes, y un análisis ANOVA para establecer la existencia de grupos significativamente diferentes entre todos los grupos analizados. Una vez fijada la influencia del factor sobre los datos mediante la prueba ANOVA se puede conocer que grupos son diferentes entre sí. Para ello, se determina que valores son diferentes entre sí mediante un test de Fisher LDS para un nivel de significación de $\alpha=0,05$. Este test se fundamenta en comparar las diferencias de medias de cada muestra, para cada parámetro evaluado, con la tabla de valores obtenidos estadísticamente. Así, utilizando la prueba ANOVA con el test de Fisher LDS es posible conocer la existencia de grupos significativamente diferentes, cuales son dichos grupos y en qué medida son diferentes.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 3 muestra los resultados medios anuales de los parámetros analizados en las 240 muestras pertenecientes a los 4 sistemas de explotación ovina diferentes.

Tabla 3: Composición en ácidos grasos, vitaminas liposolubles y actividad antioxidante de leche procedente de explotaciones intensivas, semi-intensivas, semi-extensivas y ecológicas durante 12 meses

PARAMETROS ANALIZADOS	SISTEMA DE PRODUCCIÓN				Valor P		
	INTENSIVO	SEMI-INTENSIVO	SEMI-EXTENSIVO	ECOLÓGICO	SP	MES	SP*MES
Retinol (µg/100 ml)	60,8 ^a	57,63 ^a	74,9 ^b	68,58 ^{ab}	0,0001	0,0000	0,0109
α-Tocoferol (µg/100 ml)	78,37 ^a	74,73 ^a	139,77 ^b	167,963 ^b	0,0000	0,0001	0,2982
γ-Tocoferol (µg/100 ml)	12,72 ^b	7,49 ^a	9,16 ^a	12,84 ^b	0,0000	0,0213	0,4759
Actividad antioxidante (TEAC)	1,5 ^a	1,5 ^a	1,69 ^b	1,65 ^b	0,0000	0,7497	0,9680
Total SFA (%)	70,47 ^a	71,37 ^{ab}	72,45 ^b	71,57 ^{ab}	0,0051	0,0746	0,5481
Total MUFA (%)	24,47 ^b	23,97 ^{ab}	23,20 ^a	24,53 ^{ab}	0,0676	0,2187	0,5413
Total PUFA (%)	5,05 ^b	4,64 ^a	4,34 ^a	4,65 ^{ab}	0,0000	0,0855	0,9852
Butírico (%)	0,90 ^b	1,07 ^c	0,79 ^a	0,67 ^a	0,0000	0,9939	0,9852
Caproico (%)	1,68 ^{ab}	1,73 ^b	1,60 ^a	1,98 ^c	0,0000	0,8815	0,3790
Caprílico (%)	2,43 ^b	2,27 ^a	2,30 ^a	2,68 ^c	0,0000	0,7815	0,2218
Caprico (%)	8,48 ^b	7,90 ^a	8,48 ^b	9,40 ^c	0,0003	0,3938	0,4280
Undecanoico (%)	0,35 ^a	0,33 ^a	0,39 ^b	0,42 ^b	0,0000	0,4912	0,6141
Laúrico (%)	5,05 ^b	4,70 ^a	5,13 ^b	5,87 ^c	0,0000	0,2108	0,6898
Tridecanoico (%)	0,18 ^{ab}	0,16 ^a	0,18 ^{bc}	0,20 ^c	0,0030	0,0245	0,6664
Mirístico (%)	11,76 ^a	11,73 ^a	12,82 ^b	13,40 ^b	0,0000	0,0051	0,7200
Pentadecanoico (%)	1,06 ^a	1,09 ^a	1,10 ^a	1,10 ^a	0,7245	0,0767	0,7559
Palmítico (%)	26,83 ^a	26,84 ^a	28,48 ^b	27,21 ^a	0,0000	0,8658	0,9935
Margárico (%)	0,67 ^b	0,64 ^b	0,57 ^a	0,57 ^a	0,0000	0,9535	0,8892
Esteárico (%)	11,23 ^b	11,80 ^b	9,89 ^a	9,49 ^a	0,0000	0,5597	0,8060
Miristoleico (%)	0,50 ^b	0,51 ^b	0,45 ^a	0,42 ^a	0,0001	0,4887	0,9749
Palmitoleico (%)	0,70 ^a	1,20 ^b	1,51 ^c	1,41 ^c	0,0000	0,4727	0,7404
Heptadecenoico (%)	0,25 ^c	0,22 ^b	0,20 ^a	0,19 ^a	0,0000	0,8142	0,9073
Trans-vaccenico (%)	0,75 ^a	1,80 ^b	1,58 ^b	2,73 ^c	0,0000	0,0000	0,0000
Oleico (%)	20,48 ^b	20,42 ^b	20,01 ^b	18,75 ^a	0,0269	0,3450	0,2462
Linoelaidico C18:2n6t (%)	0,26 ^c	0,23 ^{bc}	0,20 ^a	0,21 ^{ab}	0,0003	0,4835	0,9764
Linoleico (%)	2,75 ^b	2,62 ^{ab}	2,45 ^a	2,47 ^{ab}	0,0263	0,1212	1,0000
g-linoleico (%)	0,064 ^a	0,11 ^b	0,27 ^c	0,038 ^a	0,0000	0,9929	-
Linolénico (%)	0,64 ^a	0,76 ^b	0,65 ^{ab}	0,57 ^a	0,0404	0,7924	0,9984
9c-11t CLA (%)	0,59 ^b	0,65 ^b	0,50 ^a	0,44 ^a	0,0022	0,4498	0,9997
9c11c (%)	0,07 ^{bc}	0,082 ^c	0,068 ^b	0,054 ^a	0,0003	0,9867	0,9853
Eicosatrienoico C20:3 n6 (%)	0,154 ^b	0,154 ^b	0,124 ^a	0,111 ^a	0,0000	0,8843	-
Araquidónico (%)	0,23 ^c	0,19 ^b	0,17 ^a	0,18 ^{ab}	0,0000	0,9243	0,9989
Docosadienoico (%)	0,065 ^a	0,077 ^b	0,081 ^b	0,068 ^{ab}	0,0110	0,6238	-
EPA (%)	0,048 ^a	0,058 ^b	0,066 ^b	0,064 ^{ab}	0,0165	0,9317	-
DHA (%)	0,029 ^a	0,028 ^a	0,048 ^{ab}	0,053 ^b	0,0233	0,9999	-

Alumno: David Sanjuan Iglesias

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID (CAMPUS DE PALENCIA) – E.T.S. DE INGENIERÍAS AGRARIAS

Titulación: MASTER EN CALIDAD, DESARROLLO E INNOVACIÓN DE LOS ALIMENTOS

La tabla anterior muestra tanto las medias para cada uno de los parámetros como la existencia de efecto significativo (95% $p < 0.05$; 99% $p < 0.01$, 99,9% $p < 0.001$) para los dos factores considerados, sistema de producción (SP) y mes de muestreo y su interacción. La existencia de diferencias estadísticamente significativas entre medias en función del sistema de producción a un nivel de significación $\alpha = 0.05$ se indica con letras diferentes dentro de la misma fila.

La actividad antioxidante se expresa en TEAC o actividad antioxidante equivalente a trolox.

En los apartados siguientes se van a desglosar los datos consignados en dicha tabla.

4.1. VITAMINAS

A la vista de los resultados (Tabla 3), se observa que por separado, tanto el tipo de sistema de producción como el mes ejercen una influencia significativa sobre la cantidad de vitaminas liposolubles de la leche de oveja, sin embargo, si tenemos en cuenta tanto la interacción del sistema de producción como el mes, entonces observamos que solo en el caso del retinol, ambos factores ejercen una influencia significativa sobre su concentración en la leche observándose cierta tendencia a subir dicha concentración en la leche procedente de los sistemas semi-extensivos y ecológicos durante los meses de primavera (marzo, abril y mayo) (Figura 2) coincidiendo al mismo tiempo con el periodo en el que la cantidad y calidad del forraje en verde es mayor. En la leche de los sistemas intensivo y semi-intensivo, la concentración de retinol presenta variaciones entre meses de muestreo ($p = 0.000$) con valores sin mostrar una influencia clara de la estación, salvo la tendencia a mostrar valores más bajos en marzo y abril.

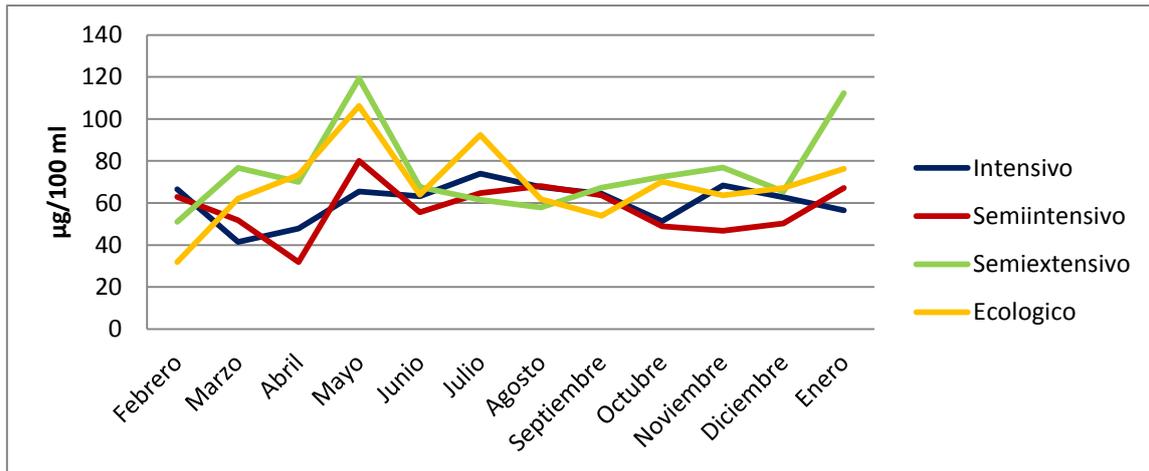


Figura 2: Concentración del retinol en leche procedente de los 4 sistemas de producción durante 12 meses

En el caso del α - y γ -tocoferol dicha interacción sistema producción-mes no es significativa, pero sí el mes debido a las fuertes variaciones de concentración entre muestreos tal y como se observa en la Figura 3. Sí se observa efecto significativo del sistema de producción ($p < 0.000$) siendo mayor la concentración de α -tocoferol en el sistema semi-extensivo a lo largo del año (Figura 3). En el caso del γ -tocoferol el sistema ecológico presenta valores ligeramente más altos en los meses de invierno pero el efecto no es significativo. En el resto de sistemas de producción, la concentración tanto de α -tocoferol como de γ -tocoferol se mantuvo constante a lo largo de año (Figura 3 y Figura 4).

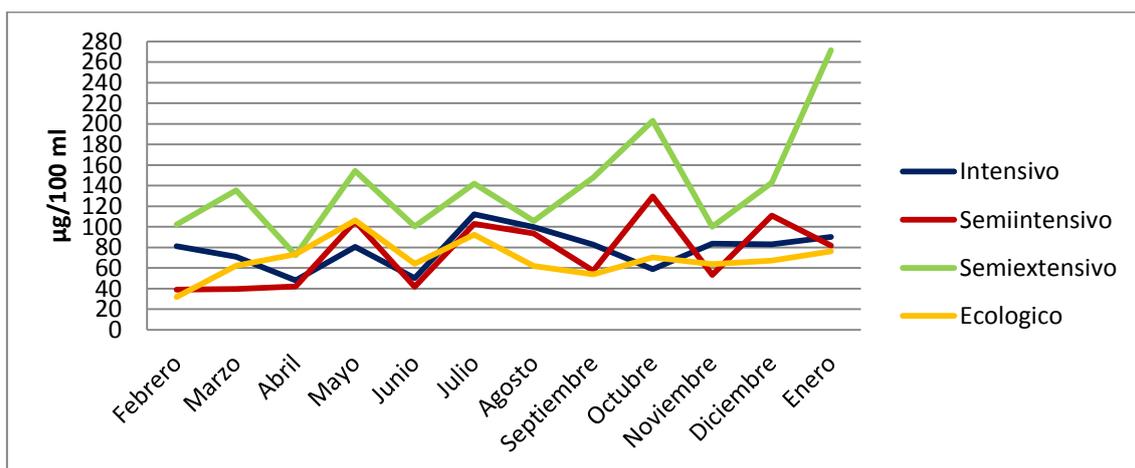


Figura 3: Concentración de α -tocoferol en leche procedente de los 4 sistemas de producción durante 12 meses.

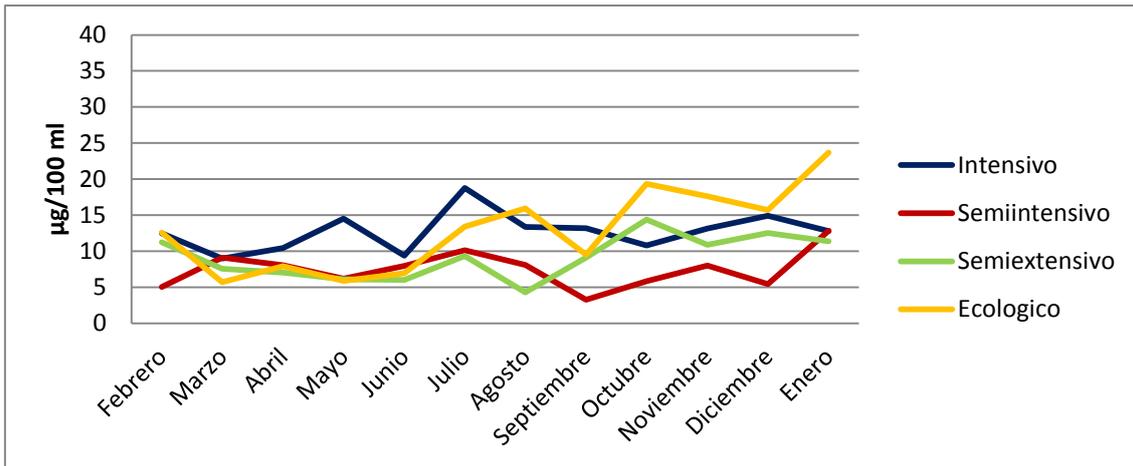


Figura 4: Concentración de γ -tocoferol en leche procedente de los 4 sistemas de producción durante 12 meses

Quando se considera el efecto del sistema de producción se observa que la concentración de retinol fue significativamente mayor en la leche procedente del sistema semi-extensivo seguida del sistema ecológico aunque en este último caso, la diferencia respecto al resto de sistemas de explotación no fue significativa. La concentración de α -tocoferol fue significativamente mayor en la leche procedente de los sistemas semi-extensivo y ecológico mientras que la cantidad de γ -tocoferol fue significativamente mayor en los sistemas intensivos y ecológicos (Tabla 3).

Estos resultados se aproximan a los resultados de Butler (2011) quien encontró niveles más altos de retinol y de α -tocoferol en la leche procedente de los sistemas semi-extensivos y ecológicos. También a los resultados de otros investigadores como Jensen (1999), Robertson (2004), Nielsen (2004) o Browning (2005), quienes también encontraron niveles más altos en varias sustancias promotoras de la salud entre las que se incluyen el α -tocoferol y el β -caroteno (precursor del retinol) en sistemas de producción ecológicos.

Este resultado está correlacionado tanto con la mayor ingesta de pastos verdes de los sistemas semi-extensivos tanto convencionales (0,48 kg por oveja y día) como ecológicos (1,02 kg por oveja y día) frente a los intensivos y semi-intensivos cuyo consumo es prácticamente cero, pero también con la menor producción lechera de estos sistemas semi-extensivos (Tabla 1) lo cual produce un aumento de la concentración de las sustancias beneficiosas.

4.2. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

La actividad antioxidante de la leche está directamente relacionada con la concentración de vitaminas liposolubles en ella, debido al carácter antioxidante de los tocoferoles y del β -caroteno, el cual se relaciona a su vez con la concentración de retinol al ser el precursor de este.

Como se puede observar (Tabla 3), únicamente influye significativamente sobre la actividad antioxidante el tipo de sistema de explotación con un nivel de significación del 99,9 %, manteniéndose una tendencia constante en dicha actividad antioxidante a lo largo del año (Figura 5).

También se observa claramente como la actividad antioxidante de la leche procedente de los sistemas de producción semi-extensivo y ecológico fue significativamente mayor que en la leche procedente de los sistemas intensivo y semi-extensivo a lo largo de todo el año (Figura 5), coincidiendo estos valores más elevados con los valores más elevados de vitaminas liposolubles en los sistemas semi-extensivos y ecológicos (Tabla 3).

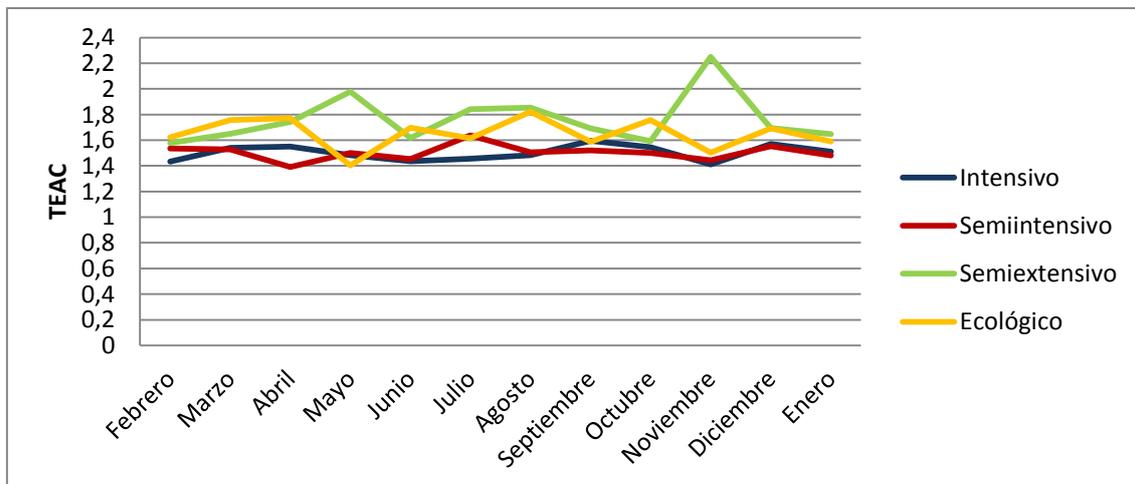


Figura 5: Actividad antioxidante de la leche procedente de los 4 sistemas de producción durante 12 meses.

Estos resultados vienen a corroborar los resultados de Butler (2008), Jensen (1999), Robertson (2004), Nielsen (2004) y Browning (2005), como ocurría en el caso de las vitaminas. También podemos asegurar que esta mayor actividad antioxidante en los sistemas semi-extensivo y ecológico está directamente relacionada con el mayor porcentaje de forraje fresco consumido por el ganado en estos dos sistemas de explotación coincidiendo con los estudios de Havemose et al. (2004), en los que se vio

cómo con una mayor proporción de pastos y ensilado de maíz en la dieta de los animales se conseguían unas concentraciones de α -tocoferol y β -caroteno en la leche mayores, ya que estos forrajes son más ricos en antioxidantes que los piensos y concentrados predominantes en la alimentación de los sistemas intensivos y semi-intensivo, consiguiéndose a su vez una actividad antioxidante más elevada.

4.3. ÁCIDOS GRASOS

La cantidad total de SFA fue significativamente mayor en la leche del sistema semiextensivo respecto a la leche del sistema intensivo sin diferencias apreciables con el resto de sistemas de explotación (Tabla 3). Por lo tanto el sistema de explotación ha sido un factor significativo mientras que el factor mes no lo ha sido permaneciendo la concentración de SFA prácticamente constante a lo largo del año (Figura 6) con excepción de la leche ecológica, en la que se observa como en los meses de verano se produce un gran aumento de la concentración de SFA en la leche ecológica (Figura 6). Esto se debe a que durante estos meses hay una cantidad mucho más elevada de grano en los pastos y que es ingerido por el ganado que se alimenta en total libertad. Por lo tanto, en este caso el mes sí ha sido un factor significativo en el perfil de SFA.

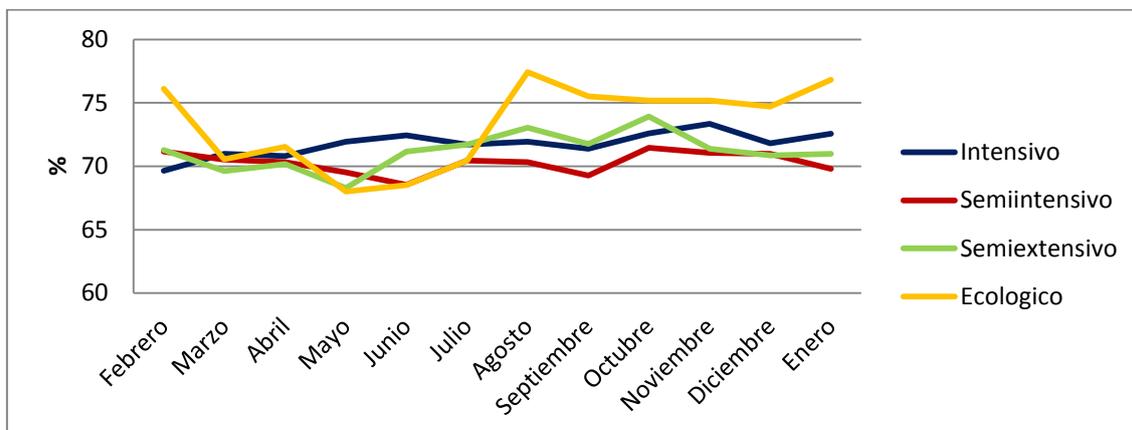


Figura 6: Concentración total de ácidos grasos saturados (SFA) en leche procedente de los 4 sistemas de producción durante 12 meses.

De todos los SFA analizados, de entre los mayoritarios el Caprílico, Capríco, Láurico y Mirístico presentaron concentraciones significativamente mayores en la leche ecológica con respecto al sistema intensivo y semiintensivo, mientras que en el caso del Palmítico la mayor concentración corresponde al sistema semi-extensivo y en el caso del esteárico a los sistemas más intensificados, al igual que ocurre con los minoritarios Butírico y Margárico. De entre estos minoritarios, las concentraciones del

Caproico y Undecanoico y Tridecanoico también han sido significativamente más elevada en la leche ecológica (Tabla 3).

En el caso de los ácidos MUFA, su concentración total en la leche de los sistemas intensivos fue significativamente mayor que en la leche de los sistemas semiintensivos, sin mostrar ninguna diferencia significativa con la concentración de estos ácidos grasos en la leche del resto de sistemas de explotación (Tabla 3). En general, ni el tipo de explotación ni el mes del año han influido significativamente en la concentración de MUFA permaneciendo constante a lo largo del año pero como ocurría en el caso anterior, aunque en el caso de la leche ecológica, se observa una tendencia en la concentración de MUFA a disminuir durante los meses de verano (Figura 7) lo cual está asociado al aumento de SFA en esos meses como se comentó anteriormente.

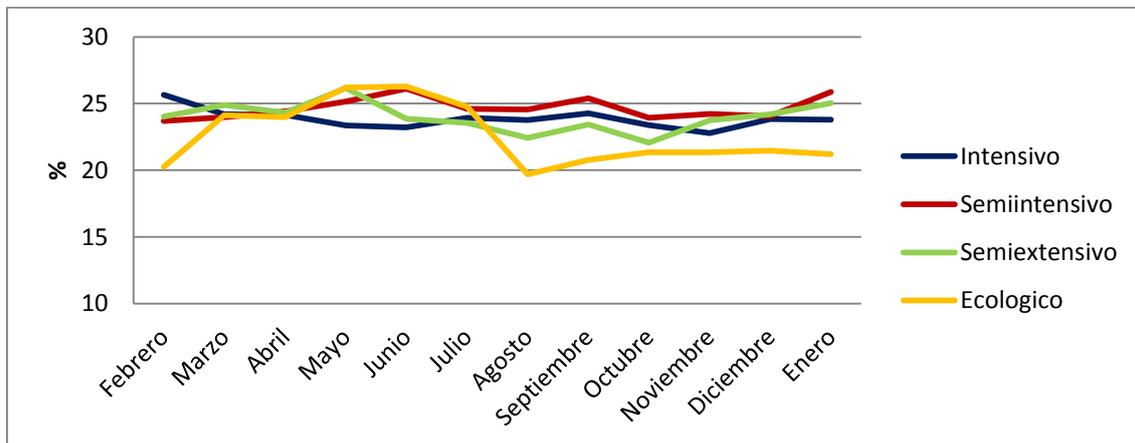


Figura 7: Concentración total de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) en leche procedente de los 4 sistemas de producción durante 12 meses.

. Si miramos cada MUFA individualmente, estos también se han visto influenciados significativamente ($p < 0.01$) por el tipo de sistema de explotación. Los MUFA más abundantes en la leche de oveja son los ácidos palmitoleico cuya concentración es significativamente superior en la leche ecológica y oleico, encontrado en cantidades significativamente mayores en la leche de los sistemas intensivo, semiintensivo e incluso en el semiextensivo (Tabla 3). En menor cantidad encontramos los ácidos heptadecenoico y trans-vaccenico en concentraciones significativamente superiores en la leche ecológica y el ácido miristoleico, más abundante en la leche de los sistemas intensivo y semiintensivo.

La concentración total de ácidos PUFA en la leche procedente de los sistemas de explotación intensivos fue significativamente mayor que en la leche de los sistemas

semiintensivo y semiextensivos pero no mostró ninguna diferencia significativa con respecto a la leche de los sistemas ecológicos (Tabla 3).

Al igual que ocurría en el caso de la concentración de SFA, el sistema de explotación ha sido un factor significativo en la concentración de PUFA y en el caso de la leche ecológica, aunque el mes no ha sido significativo, se observa una tendencia a disminuir la concentración de PUFA durante los meses de verano al igual que ocurría con los MUFA. (Figura 8).

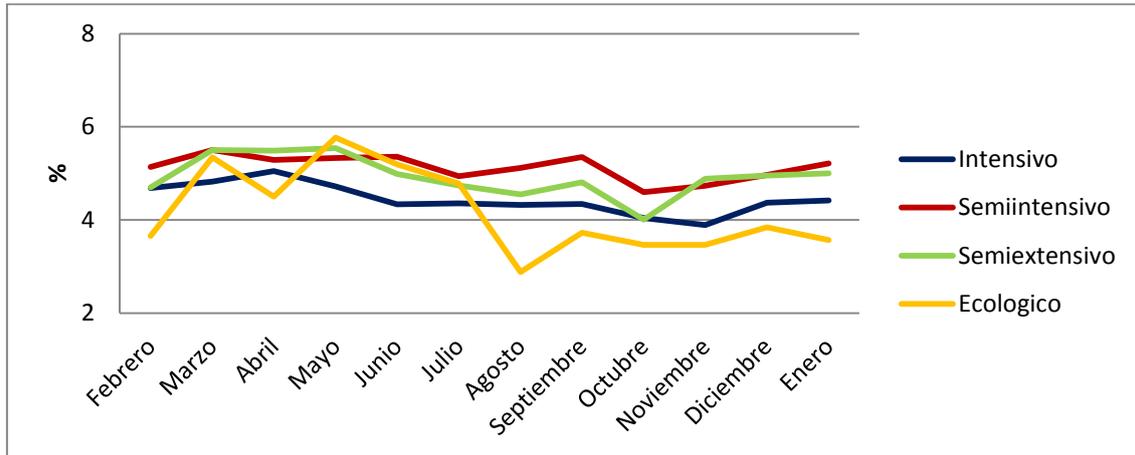


Figura 8: Concentración total de ácidos grasos poliinsaturados (% PUFA) en leche procedente de 4 sistemas de producción durante 12 meses

Como se puede observar (Tabla 3), en la concentración de ácido Linoleico ($\omega 6$), el ácido PUFA que se encuentra en mayor cantidad en la leche, mostró una diferencia significativa entre los distintos tipos de explotación siendo las cantidades más altas en las explotaciones intensivas. A pesar de no estar de no mostrar un efecto significativo del tiempo, su concentración tiende a disminuir durante los meses de verano como ocurre con el total de PUFA (Figura 9).

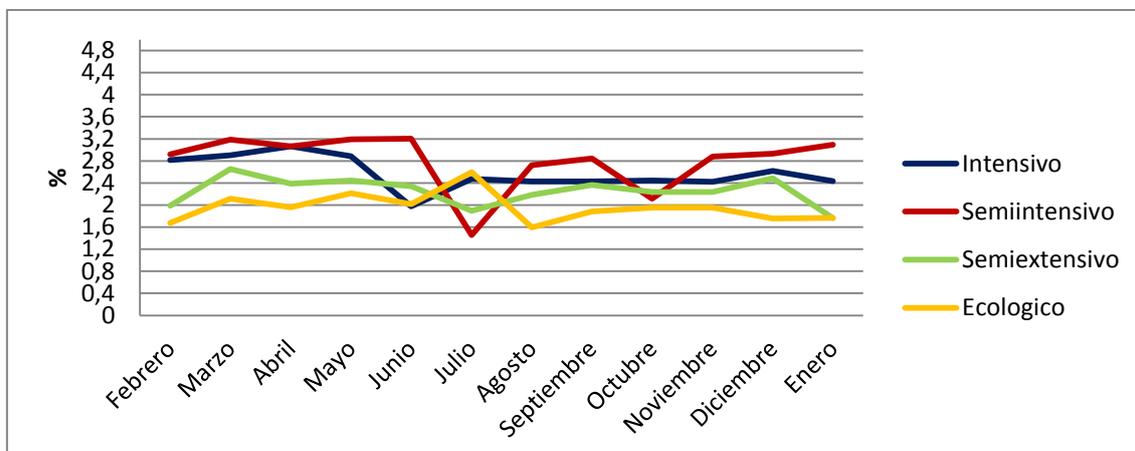


Figura 9: Concentración de ácido linoleico en leche procedente de los 4 sistemas de producción durante 12 meses.

Entre los ácidos grasos $\omega 3$ tenemos los ácidos linolénico, araquidónico, eicosapentaenoico (EPA) y el ácido Docosahexaenoico (DHA). En general, apenas existen diferencias en la concentración de estos ácidos grasos en la leche de los distintos sistemas de producción (Tabla 3) aunque al igual que ocurre con el ácido linoleico, se observa una tendencia a disminuir la cantidad de ácidos $\omega 3$ durante los meses de verano (Figura 10). El ácido graso poliinsaturado $\omega 3$ más abundante es el ácido linolénico cuya concentración, no muestra ninguna diferencia significativa entre los distintos sistemas de explotación.

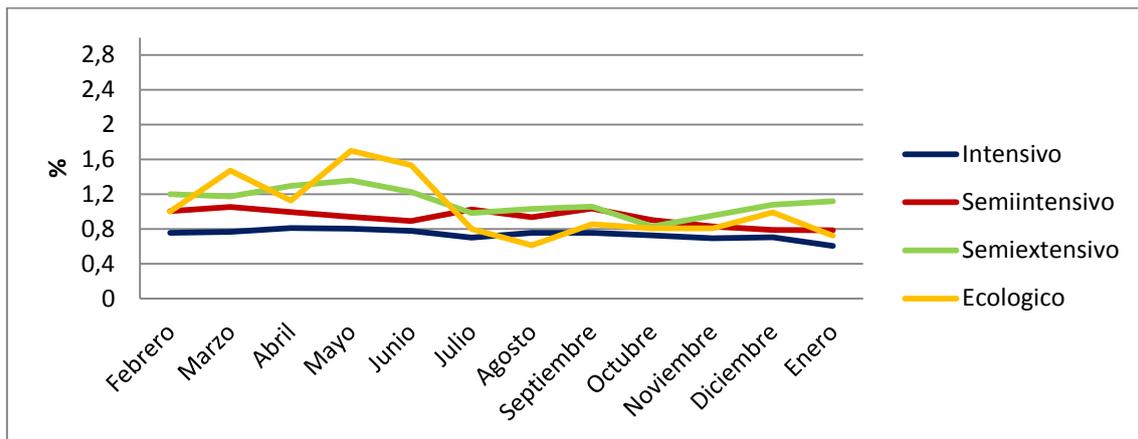


Figura 10: Concentración de ácidos grasos $\omega 3$ en leche procedente de los 4 sistemas de producción durante 12 meses.

Como se puede observar (Tabla 3), la concentración de los isómeros del CLA, CLA9 y CLA 9-cis, 11-cis fue significativamente inferior en la leche ecológica y más baja en la leche del sistema semiextensivo siendo el sistema de explotación, por lo tanto, un factor significativo. Por otro lado, aunque el mes no es significativo, también se puede apreciar una tendencia a aumentar los contenidos de CLA totales en los meses de primavera y a disminuir durante los meses de verano, al igual que ocurre con los PUFA en general, en el caso de las explotaciones semi-extensivas y ecológicas.

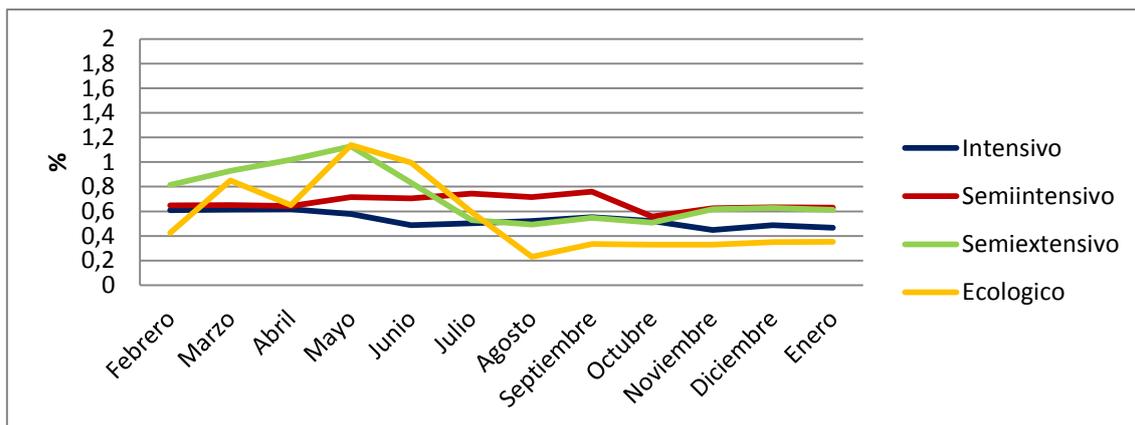


Figura 11: Concentración de CLA en leche procedente de los 4 sistemas de producción durante 12 meses.

Estos resultados no concuerdan con los de otros autores como Dewhurst (2006), Elsgersma (2006), Dhiman (1999), Collomb (2006) o Glasser (2008) quienes vieron como con dietas basadas en forraje fresco como ocurre en el sistema de explotación ecológico, la cantidad de PUFA aumenta incrementándose también las concentraciones totales de CLA y linoléico mientras que en sistemas con alimentación basada en forrajes conservados y suplementos puede aumentar la concentración de SFA disminuyendo la concentración de PUFA. Butler et al (2008, 2011) en sus estudios también observaron como la concentración de SFA era menor en la leche procedente de sistemas de explotación ecológicos mientras que la concentración de MUFA y PUFA aumento.

En el presente estudio, los niveles de CLA y de ácidos linoleico y linolenico totales han sido superiores en el sistema intensivo lo cual contradice las afirmaciones de Bloksma (2008) quien encontró niveles más altos de dichos ácidos grasos en la leche ecológica. Únicamente los ácidos grasos ω 3: eicosapentanoico (EPA) y docosahexanoico (DHA), han presentado valores más elevados en la leche ecológica aunque solo en el caso del DHA han sido significativos.

Sin embargo, cuando Butler et al (2008) compararon la leche teniendo en cuenta los periodos en los que el ganado pastaba al aire libre con los periodos de estabulación y suplementación de la dieta, también observaron cómo en los periodos al aire libre en los que el ganado se alimentaba de pastos frescos, la concentración de SFA disminuyó mientras que la concentración de MUFA y PUFA totales, ácido linoleico, ácidos grasos ω 3 y CLA aumentó al igual de los que lo que se observa en el presente estudio coincidiendo con los meses de primavera, lo que demuestra la influencia que tiene el tipo de alimentación sobre el perfil de ácidos grasos de la leche

Lo que sí parece quedar claro es que el tipo de sistema de explotación influye significativamente en la composición de la leche al ser un factor determinante en la concentración de la mayoría de los ácidos grasos estudiados aunque los resultados obtenidos son contradictorios.

5. CONCLUSIONES

- La concentración en vitaminas de la leche está claramente influenciada por el tipo de sistema de explotación utilizado encontrando valores más elevados de vitaminas liposolubles, y más concretamente de retinol y de α -tocoferol, en la leche procedente de sistemas en los que las dietas del ganado son más saludables predominando el consumo de forrajes frescos.
- La concentración de retinol en la leche depende significativamente tanto del tipo de explotación utilizada como del mes del año observándose una tendencia a aumentar durante los meses de primavera y verano en los sistemas ecológico y semiextensivo y coincidiendo con el periodo en el que la cantidad y calidad de los forrajes naturales son mayores.
- La actividad antioxidante está directamente relacionada con la concentración de vitaminas y depende directamente del sistema de explotación utilizado, siendo superior en la leche de los sistemas ecológico y semiextensivo. Esto se debe a la mayor concentración de vitaminas liposoluble en la leche, las cuales presentan un carácter antioxidante, y a la dieta del ganado en este tipo de sistemas pues el forraje fresco es mucho más rico en compuestos antioxidantes.
- Se observa un efecto significativo del tipo de sistema de explotación sobre el perfil de SFA y PUFA ($P < 0.01$) mientras que la concentración de MUFA total permanece constante con independencia del sistema de explotación.
- El mes del año no influye significativamente en el perfil de ácidos grasos de la leche. Sin embargo, en el caso de la leche ecológica sí que se observa una tendencia en los meses de verano al aumento de SFA y al descenso de MUFA y PUFA, así como de la concentración de los ácidos grasos linoleico, $\omega 3$ y CLA, coincidiendo con el periodo de año en el que existe una mayor cantidad de semillas ricas en SFA en relación a los pastos los pastos y forrajes frescos existiendo por lo tanto, una clara influencia de la alimentación sobre el perfil de ácidos grasos de la leche.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Albers, R. (2003). *Effects of cis-9 trans-11 and trans-10, cis-12 Conjugated Linoleic Acid (CLA) Isomers on Immune Function in Healthy Men*. Unilever Health Institute, Unilever Research Vlaardingen; Vlaardingen, The Netherlands.
- Albert, C.M., Oh, K., Whang, W., Manson, J.E., Chae, C.U., Stampfer, M.J., Willett, W.C. & Hu, F.B. (2005). *Dietary α -linolenic acid intake and risk of sudden cardiac death and coronary heart disease*. *Circulation*, 112, 3232–3238.
- Bargo, F., Delahoy, J.E., Schroeder, G.F., Baumgard, L.H., & Muller, L.D. (2006). *Supplementing total mixed rations with pasture increase the content of conjugated linoleic acid in milk*. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 131, 226–240.
- Barrefors, P., Granelli, K., Appelqvist, L.-A., & Bjoerck, L. (1995). *Chemical characterization of raw milk samples with and without oxidative off-flavor*. *Journal of Dairy Science*, 78, 2691–2699.
- Bergamo, P., Fedele, E., Lannibelli, L. & Marzillo, G. (2003). *Fat-soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products*. *Food Chemistry*, 82, 625–631.
- Bhattacharya, A., Banu, J., Rahman, M., Causey, J., & Fernandes, G. (2006). *Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease*. *J. Nutr. Biochem.*, 17, 789–810.
- Bloksma, J., Adriaansen-Tennekes, R., Huber, M., van de Vijver, L.P.L., Baars, T., de Wit, J. (2008). *Comparison of Organic and Conventional Raw Milk Quality in The Netherlands*. *Biological Agriculture and Horticulture*, 26, 69–83.
- Browning, H., Melchett, P. & Leifert, C. (2005). *New research proves organic milk is higher in vitamins and antioxidants than non-organic milk*. Press bulletin 02–03–2005 www. soilassociation.org/library.
- Bugaud, C., Buchin, S., Coulon, J.-B., Hauwuy, A., & Dupont, D. (2001). *Influence of the nature of alpine pastures on plasmin activity, fatty acid and volatile compound composition of milk*. *Le Lait*, 81(3), 401–414.
- Butler, G., Nielsen, J.H., Larsen, M.K., Rehberger, B., Stergiadis, S., Canever, A., Leifert, C. (2011). *The effects of dairy management and processing on quality characteristics of milk and dairy products*. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, 58, 3-4.
- Butler, G., Nielsen, J.H., Slots, T., Seal, C., Eyre, M.D., Sanderson, R., Lifer, C. (2008). *Fatty acid and fat-soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and - organic systems seasonal variation*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 1431–1441.
- Butler, G., Stergiadis, S., Seal, C., Eyre, M., Leifert, C. (2011). *Fat Composition of Organic and Conventional Retail Milk in Northeast England*. *Journal of Dairy Science*, 94, 24–36.
- Chen S., Bobe G., Zimmerman S., Hammond E.G., Luhman C.M., Boylston T.D. (2004). *Physical and sensory properties of dairy products from cows with various milk fatty acid compositions*. *J Agric Food Chem*, 52, 3422–3428.
- Chen, J., Lindmark-Mansson, H., Gorton, L., & Akesson, B. (2003). *Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods*. *International Dairy Journal* 13, 927–935.
- Chilliard Y., Glasser F., Ferlay A., Rouel J., & Doreau M. (2007). *Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat*. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.*, 109, 828–855.
- Collomb, M., Schmid, A. Sieber, R. Wechsler, D. & E. L. Ryhanen E. L. (2006). *Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects*. *Int. Dairy J.*, 16, 1347–1361.
- Couvreur, S., Hurtaud, C., Lopez, C., Delaby, L., & Peyraud, J.L. (2006). *The linear relationship between the proportion of fresh grass in the cow diet, milk fatty acid composition, and butter properties*. *J. Dairy Sci.*, 89, 1956–1969.
- Croissant, A.E., Washburn, S.P., Dean, L.L., & Drake, M.A. (2007). *Chemical properties and consumer perception of fluid milk from conventional and pasture-based production systems*. *J. Dairy Sci.*, 90, 4942–4953.
- Dewhurst R.J. (2005). *Targets for milk fat research: nutrient, nuisance or nutraceutical?* *J. Agric. Sci.*, 143, 359–367.
- Dewhurst, R., Fisher, W.J., Tweed, J. & Wilkins, R.J. (2003). *Comparison of grass and legume silages for milk production*. *Journal of Dairy Science*, 86, 2598–2611
- Dewhurst, R.J., Shingfield, K.J., Lee M.R., & Scollan N.D. (2006). *Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems*. *Anim. Feed. Sci. technol.*, 131, 168.
- Dhiman, T.R., Anand, G.R., Satter, L.D. & Pariza, M.W. (1999). *Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets*. *Journal of Dairy Science*, 82, 2146–2156.
- Djoussé, L., Arnett, D.K., Carr, J.J., Eckfeldt, J.H., Hopkins, P.N., Province, M.A., & Ellison, R.C. (2005). *Dietary linolenic acid is inversely associated with calcified atherosclerotic plaque in the coronary arteries*. The National Heart, Lung, and Blood Institute family heart study. *Circulation*, 111, 2921–2926.
- Edwards, S.A. (2005). *Product quality attributer associated outdoor pig production*. *Livestock Production Science*, 94, 5-14.
- Elgersma, A., Ellen, G., van der Horst, H., Muuse, B. G., Boer, H., & Tamminga, S. (2003). *Comparison of the fatty acid composition of fresh and ensiled perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), affected by cultivar and regrowth interval*. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 108, 191–205.
- Elgersma, A., Tamminga, S., Ellen, G. (2006). *Modifying milk composition through forage*. *Anim. Feed. Sci. Technol.*, 131, 207-225.

Alumno: David Sanjuan Iglesias

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID (CAMPUS DE PALENCIA) – E.T.S. DE INGENIERÍAS AGRARIAS

Titulación: MASTER EN CALIDAD, DESARROLLO E INNOVACIÓN DE LOS ALIMENTOS

- Ellis, K.A., Innocent, G., Grove-White, D., Cripps, P., McLean, W.G., Howard, C.V., Mihm, M. (2006). *Comparing the Fatty Acid Composition of Organic and Conventional Milk*. Journal of Dairy Science, 89, 1938–1950.
- Espejo, C.(1996). *Sistema de Explotación Ganadera: Notas en torno a su concepto*. Universidad de Murcia. Dpto. de Geografía.
- European Union. (2007). *Council Regulation (EC) N° 834/2007 of 28 June 2007 on organic production and labelling of organic products and repealing Regulation (EEC) No 2092/91*.
- Flachowsky, G. (2000). *Content of conjugated linoleic acid in beef from organically raised cattle*. Ernährungs Umschau, 47, 272.
- Focant, M., Mignolet, E., Manrique, M., Clabots, F., Breyne, T., Dalemans, D., & Larondelle, Y. (1998). *The effect of vitamin E supplementation of cow diets containing rapeseed and linseed on the prevention of milk fat oxidation*. Journal of Dairy Science, 81, 1095–1101.
- Fritsche, K. (2006). *Fatty acids as modulators of the immune response (review)*. Annual Reviews of Nutrition, 26, 45–73.
- G. Butler, T. Slots, C. Leifert, T. Kristensen, L.H. Skibsted, J.H. Nielsen. 2008. Potentials to differentiate milk composition by different feeding strategies. Journal of Dairy Science. 92: 2007–2066.
- Givens, D.I. (2006). *Optimising dairy milk fatty acid composition*. in: C. Williams, J. Buttriss (Eds.) Improving the Fat Content of Foods (pp 253-280). Woodhead Publishing in Food Science and Technology, Cambridge, UK.
- Givens, D.I., & Shingfield, K.J. (2004). *Foods derived from animals: The impact of animal nutrition on their nutritive value and ability to sustain long-term health*. Nutr. Bull., 29, 325–332.
- Glasser, F., Ferlay, A. & Chilliard, Y. (2008). *Oilseed lipid supplements and fatty acid composition of cow milk: A meta-analysis*. J. Dairy Sci. 91:4687–4703
- Havemose M.S., Weisbjerg M.R., Bredie W.L.P., Neilsen J.H. (2004). *Oxidative stability of milk influenced by fatty acids, antioxidants, and copper derived from feed*. J. Dairy Sci., 89, 1970–1978.
- Hayek, M.G., Han, S.N., Wu, D.Y., Watkins, B.A., Meydani, M., Dorsey, J.L., Smith, D.E. & Meydani, S.N. (1999). *Dietary conjugated linoleic acid influence the immune response of young and old C57BL/6NCrIBR mice*. Journal of Nutrition, 129, 32–38.
- Hermansen, J.E. (1995). *Prediction of milk fatty acid profile in dairy cows fed dietary fat differing in fatty acid composition*. Journal of Dairy Science, 78, 872–879.
- Hoffman, D.R., Birch, E.E., Birch, D.G., Uauy, R., Castaneda, Y.S., Lapus, M.G. & Wheaton, D.H. (2000). *Impact of early dietary intake and blood lipid composition of long-chain polyunsaturated fatty acids on later visual development*. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 31, 540–553.
- Institute of Medicine. (2001). *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc*. Food and Nutrition Board. Washington, DC: National Academy Press.
- Ishiguro, K. (2002). *Effects of conjugated linoleic acid on anaphylaxis and allergic pruritus*. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 25, 1655–1657.
- Jacobson, T.A. (2006). *Secondary prevention of coronary artery disease with omega-3 fatty acids*. The American Journal of Cardiology, 98, 61i–70i.
- Jahreis, G. (1997). *Gesündeste Milch kommt von der Weide. Arbeitsergebnisse, Zeitschrift AG Land- und Regionalentwicklung der Universität Kassel*, 44, 5–10.
- Jahreis, G., Fritsche, J. & Steinhart, H. (1997). *Conjugated linoleic acid in milk fat: high variability depending on production system*. Nutrition Research, 17, 1479–1484.
- Jensen, C.L., Voigt, R.G., Prager, T.C., Zou, Y.L., Fraley, J.K., Rozelle, J.C., Turcich, M.R., Llorente, A.M., Anderson, R.E. & Heird, W.C. (2005). *Effects of maternal docosahexaenoic acid intake on visual function and neurodevelopment in breastfed term infants*. American Journal of Clinical Nutrition, 82, 125–132.
- Jensen, S.K., Johannsen, A.K. & Hermansen, J.E. (1999). *Quantitative secretion and maximal secretion capacity of retinol, beta-carotene and alpha-tocopherol into cows' milk*. Journal of Dairy Research, 66, 511–522.
- Kraft, J., Collomb, M., Mockel, P., Sieber, R., & Jahreis, G. (2003). *Differences in CLA isomer distribution of cows milk lipid*. Lipids, 38, 657–664.
- Lock, A., & Garnsworthy, P. (2003). *Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and Δ^9 -desaturase activity in dairy cows*. Livest. Prod. Sci., 79,47–59.
- Lock, A.L., & Bauman, D.E. (2004). *Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health*. Lipids, 39, 1197-1206.
- Lynch J.M., Lock A.L., Dwyer D.A., Noorbakhsh R., Barbano D.M., & Bauman D.E. (2005). *Flavour and stability of pasteurized milk with elevated levels of conjugated linoleic acid and vaccenic acid*. J. Dairy Sci., 88, 489–498.
- Lynch, A., Kerry, J.P., Buckley, D.J., Morrissey, P.A. & Lopez-Bote, C. (2001). *Use of High pressure liquid chromatography (HPLC) for the determination of CDA-Tocopherol levels in forage (silage/grass) samples collected from different regions in Ireland*. Food Chem., 72, 521-524.

- MacGibbon, A.K.H., & Taylor, M.W. (2006). *Composition and structure of bovine milk lipids*. P.F. Fox and P.L.H. Sweeney [eds], *Advanced Dairy Chemistry Volume 2: Lipids* (pp. 1-42), Springer, New York.
- McLeod, R.S., LeBlanc, A.M., Langille, M.A., Mitchell, P.L. & Currie, D.L. (2004). *Conjugated linoleic acids, atherosclerosis, and hepatic very-low-density lipoprotein metabolism*. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 1169S–1174S.
- Meglia G.E., Jensen S.K., Lauridsen C. & Waller K.P. (2006). *α -Tocopherol concentration and stereoisomer composition in plasma and milk from dairy cows fed natural and synthetic vitamin E around calving*. *J. Dairy Res.*, 7, 227–234.
- Morales, M.S., Palmquist, D.L., & Weiss, W.P. (2000). *Milk fat composition of Holstein and Jersey cows with control or depleted copper status and fed whole soybeans or tallow*. *Journal of Dairy Science*, 83, 2112–2119.
- Murrieta, C.M., Hess, B.W., & Rule, D.C. (2003). *Comparison of acidic and alkaline catalysts for preparation of fatty acid methyl ester from ovine muscle with emphasis on conjugated linoleic acid*. *Meat Science*, 65, 523–529.
- Nauta, W.J., Groen, A.F., & Baars, T. (2002). *Breeding strategies for organic dairy cattle; genotype by environment interaction*. In: *Proceedings of 4th Organic World Congress IFOAM*, Victoria, Canada, 95.
- Nielsen, J.H. & Lund-Nielsen, T. (2004). *Higher antioxidant content in organic milk than in conventional milk due to feeding strategy*. *Darcof news*, September, no 3. www.darcof.dk/enews/sep04/milk.html.
- Norma ISO 14156:2001/IDF 172:2001
- O'Donnell, A.M., Spatny, K.P., Vicini, J.L., & Bauman, D.E. (2003). *Survey of the fatty acid composition of retail milk differing in label claims based on production management practices*. *Journal of Dairy Science*, 93(5), 1918-1925
- Prandini, A., Sigolo, S., & Piva, G. (2009). *Conjugated linoleic acid (CLA) and fatty acid composition of milk, curd and Grana Padano cheese in conventional and organic farming systems*. *J. Dairy Res.*, 76, 278–282.
- Prescott, S.L. & Calder, P.C. (2004). *N-3 polyunsaturated fatty acids and allergic disease*. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 7, 123–129.
- Rancourt, M., Fois, N., Lavín M.P., Tchakérian, E., Vallerand, F. (2006). *Mediterranean sheep and goats production: An uncertain Future*. *Small Ruminant Research*, 62, 167-179.
- Realini, C.E., Duckett, S.K., Brito, G.W, Dalla Rizza, M. y De Mattos, D. (2004). *Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef*. *Meat Science*, 66, 567-577.
- Richardson, A.J. (2004). *Long-chain polyunsaturated fatty acids in childhood developmental and psychiatric disorders*. *Lipids*, 39, 1215–1222.
- Robertson, J. & Fanning, C. (2004). *Omega 3 Polyunsaturated Fatty Acids in Organic and Conventional Milk*. University of Aberdeen; Aberdeen, United Kingdom.
- Rodríguez, L., Bartolomé, D.J., Tabernero, M.J., Posado, R., García, J.J., Bodas, R., Garrido, C., Vázquez, J.M., Mazariegos, V., Vicente, M., Olmedo, S. (2013). *Características técnico-económicas de las explotaciones de ovino lechero con reproducción asistida de Castilla y León: Sistemas y tipos de explotación*. *Separata ITEA*. Información Técnica Económica Agraria, 109, pp 201-204.
- Sait, G. & Brunetti, J. (2003). In *Nutrition Rules! Guidelines from the Master Consultants*, Soil Therapy Pty Ltd. www.nutri-tech.com.au. pp. 232–250.
- Schneider C. (2005). *Review: chemistry and biology of vitamin E*. *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 7–30.
- Simopoulos, A.P. (2002). *Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases*. *Journal of the American College of Nutrition*, 21, 495–505.
- Slots, T., Skibsted, L. H. & Nielsen, J. H. (2007). *The difference in transfer of all-rac- α -tocopherol stereo-isomers to milk from cows and the effect on its oxidative stability*. *Int. Dairy J.*, 17, 737–745.
- Soil Association Certification. (2005). *Organic Standards*, No. 10.13.34. Soil Association Certification, Bristol, UK.
- Stark, A.H., Crawford, M.A., & Reifen, R. (2008). *Update on α -linolenic acid*. *Nutr. Rev.*, 66, 326-332.
- Thomas, S.R., Neuzil, J. & Stocker R. (1996). *Cosupplementation with coenzyme Q prevents the prooxidant effect of α -tocopherol and increases the resistance of LDL to transition metal-dependent oxidation initiation*. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 16, 687–696.
- Timmons, J.S., Weiss, W.P., Palmquist, D.L., & Harper, W.J. (2001). *Relationships among dietary roasted soybeans, milk components, and spontaneous oxidized flavor of milk*. *Journal of Dairy Science*, 84, 2440–2449.
- Wahle K.W.J., Heys S.D., & Rotondo D. (2004). *Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health?* *Rec. Prog. Lipid. Res.* 43, 553–587.
- Walker, G.P., Dunshea, F.R., & Doyle, P.T. (2004). *Effects of nutrition and management on the production and composition of milk fat and protein: A review*. *Aust. J. Agric. Res.*, 55, 1009–1028.
- Witkowska, I. (2004). *Effect of season on fatty acids composition of herbage species in relation to fatty acid patterns of milk fat*. MSc. Thesis Wageningen University; Wageningen, The Netherlands.