



Universidad de Valladolid
Campus de Palencia

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR
DE INGENIERÍAS AGRARIAS**

Máster Universitario en Ingeniería Agronómica

**Influencia de la vitamina E (Natural vs.
Sintética) en dietas enriquecidas con
ácido α -linolénico sobre la producción y
composición de la leche de oveja**

Alumno: Roberto Pérez González

Tutora: Teresa Manso Alonso

Cotutora: Beatriz Gallardo García

Julio de 2017

Copia para el tutor/a



Universidad de Valladolid

Departamento de
Ciencias Agroforestales

AUTORIZACIÓN DE LAS TUTORAS DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER PARA SU PRESENTACIÓN

Las Dras. Teresa Manso Alonso y Beatriz Gallardo García como tutoras del Trabajo Fin de Máster titulado "*Influencia de la vitamina E (natural vs. sintética) en dietas enriquecidas con ácido α -linolénico sobre la producción y composición de la leche de oveja*" realizado por el alumno Roberto Pérez González en la Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias de la Universidad de Valladolid dentro del Máster Universitario en Ingeniería Agronómica, autorizan su presentación dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Y para que conste a los efectos oportunos, lo firman en Palencia a 4 de julio de 2017

Fdo. Dra. Teresa Manso Alonso
Profesora Titular de Universidad
Universidad de Valladolid

Fdo. Dra. Beatriz Gallardo García
Profesora Ayudante Doctor
Universidad de Valladolid

Este proyecto ha sido financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (Proyecto AGL2016-75159-C2-1-R) en el marco del Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación 2013-2016.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a Teresa y a Beatriz, por haberme dado la oportunidad de realizar este trabajo, así como por su dedicación e interés en mi aprendizaje.

También quiero agradecer a mi familia su apoyo durante todo este periodo.

¡Muchas gracias!

ÍNDICES Y ABREVIATURAS

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	1
ABSTRACT	4
1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	10
2.1. Los antioxidantes: la vitamina E	11
2.1.1. Absorción y metabolismo.....	15
2.1.2. Funciones	16
2.1.3. Necesidades nutritivas	17
2.2. Composición de la leche de oveja	19
2.2.1. Grasa	20
2.2.2. Proteína	24
2.2.3. Hidratos de carbono	25
2.2.4. Minerales.....	26
2.2.5. Enzimas y vitaminas.....	27
2.3. Factores que afectan a la producción y composición de la leche de oveja.....	28
2.3.1. Factores no nutricionales.....	28
2.3.1.1. Factores genéticos	28
2.3.1.2. Fase de lactación	29
2.3.1.3. Frecuencia de ordeño.....	31
2.3.1.4. Otros factores	32
2.3.2. Factores nutricionales.....	32
2.3.2.1. Forraje de la ración.....	32
2.3.2.2. Suplementación con grasas	36
2.3.2.3. Suplementación con antioxidantes: Vitamina E.....	39
3. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL	43
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	46
4.1. Animales y alimentación	47
4.2. Producción y composición de la leche	48
4.3. Determinaciones analíticas.....	49
4.3.1. Alimentos	49
4.3.2. Leche	50
4.4. Análisis estadísticos	52
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	53
5.1. Peso medio y condición corporal	54
5.2. Producción y composición de la leche	54
5.3. Perfil de ácidos grasos de la leche.....	57

5.3.1. Contenido en ácidos grasos saturados	57
5.3.2. Contenido de ácidos grasos monoinsaturados	58
5.3.3. Contenido en ácidos grasos poliinsaturados.....	61
5.4. Relaciones entre los ácidos grasos de la leche	64
5.5. Vitamina E	67
6. CONCLUSIONES.....	69
7. BIBLIOGRAFÍA.....	71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Sistemas antioxidantes de las células de los mamíferos.....	12
Tabla 2.2. Concentración de tocoferol en distintos aceites vegetales (mg/kg).....	14
Tabla 2.3. Composición química media de la leche de oveja, cabra y vaca.....	19
Tabla 2.4. Valores medios, mínimos y máximos de los principales ácidos grasos en la leche de oveja (% sobre metilésteres de ácidos grasos).	21
Tabla 2.5. Isómeros del ácido linoleico conjugado (% del total de CLA) en la grasa de la leche de oveja.	23
Tabla 2.6. Contenidos en minerales (por 100 g) de la leche de oveja, cabra y vaca.	26
Tabla 2.7. Contenidos en vitaminas (por 100 g) de la leche de oveja, cabra y vaca.	27
Tabla 2.8. Contenido en grasa y proteína de la leche de algunas razas ovinas.	28
Tabla 2.9. Evolución del contenido en grasa y proteína de la leche de ovejas Latxas y Manchegas en distintas fases de la lactación.....	30
Tabla 4.1. Ingredientes y composición química de la dieta experimental.....	48
Tabla 5.1. Peso medio (kg) y condición corporal media (CC) de las ovejas de cada uno de los grupos experimentales.....	54
Tabla 5.2. Producción y composición media de la leche de las ovejas pertenecientes a los tres tratamientos experimentales.	55
Tabla 5.3. Porcentaje de ácidos grasos saturados obtenidos en la leche correspondiente a los distintos grupos experimentales (g/100 g de ácidos grasos totales).	57
Tabla 5.4. Pocentaje de ácidos grasos monoinsaturados obtenidos en la leche correspondiente a los distintos grupos experimentales (g/100 g de ácidos grasos totales).....	59
Tabla 5.5. Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados obtenidos en la leche correspondiente a los distintos grupos experimentales (g/100 g de ácidos grasos totales).	61
Tabla 5.6. Sumatorios de los distintos ácidos grasos (g/100 g de grasa total) de la grasa de la leche de las ovejas correspondiente a los distintos tratamientos experimentales.....	64
Tabla 5.7. Índices de los distintos ácidos grasos correspondientes a los distintos tratamientos experimentales.....	66
Tabla 5.8. Contenido medio de vitamina E (μ g/ ml leche) pertenecientes a los tres tratamientos experimentales.....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Estructura de las distintas moléculas que se incluyen en el término de la vitamina E.	13
Figura 2.2. Regeneración de la vitamina E.	17
Figura 2.3. Variación en las concentraciones de grasa (°) y proteína (•) a lo largo de la lactación. Adaptado de Pulina y Nudda (2004).....	30
Figura 2.4. Rutas principales de biohidrogenación de los lípidos de la dieta y origen del VA y RA en la grasa de la leche de rumiantes.....	34
Figura 3.1. Esquema del planteamiento experimental.	45
Figura 5.1. Porcentaje de C18:1 <i>trans</i> -10 y C18:1 <i>trans</i> -11 (VA) en la grasa de la leche.....	59
Figura 5.2. Porcentajes de ácidos grasos poliinsaturados de la grasa de la leche de las ovejas correspondientes a los diferentes tratamientos experimentales.....	62
Figura 5.3. Porcentajes de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de la grasa de la leche de las ovejas correspondientes a los diferentes tratamientos experimentales...	65
Figura 5.4. Contenido medio de vitamina E de cada uno de los tres tratamientos experimentales.....	68

ABREVIATURAS

AG: ácidos grasos

ALA: ácido α -linolénico

AM: aceites de pescado y algas marinas

CLA: ácido linoleico conjugado

MF: materia fresca

MFD: síndrome de depresión de la grasa de la leche

MS: materia seca

MUFA: ácidos grasos monoinsaturados

PUFA: ácidos grasos poliinsaturados

RA: ácido ruménico (*cis*-9, *trans*-11 C18:2)

RCS: recuento de células somáticas

VA: ácido vaccénico (*trans*-11 C18:1)

RESUMEN

El objetivo de este trabajo ha sido comparar el efecto de la incorporación de vitamina E sintética frente a vitamina E natural en raciones ricas en ácido α -linolénico de ovejas en la fase intermedia de lactación, sobre la producción y composición de la leche producida. Para ello, se emplearon treinta y seis ovejas de raza Churra divididas en tres tratamientos experimentales de acuerdo con la ración que recibieron: Control (ración sin vitamina E), Sin-E (ración con 400 mg/kg de vitamina E sintética) y Nat-E (ración con 400 mg/kg de vitamina E natural).

Los animales permanecieron estabulados durante todo el experimento, ordeñándose a máquina dos veces al día. Se les suministró la ración repartida en dos comidas después del ordeño. Se realizaron tres controles lecheros (después de un período de adaptación de tres semanas) con un intervalo de 7 días entre cada uno, donde se registró la producción total de leche y se tomaron muestras para determinar la composición fisicoquímica (sólidos totales, grasa, proteína y lactosa), el perfil de ácidos grasos de la leche y el contenido en vitamina E de la leche.

La suplementación de la dieta de las ovejas Churras en la fase intermedia de lactación con vitamina E, natural o sintética, no afectó de manera estadísticamente significativa ($P > 0,05$) ni a la producción ni a la composición de leche producida.

Respecto, al perfil de ácidos grasos saturados y monoinsaturados de la grasa de la leche, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) debidas a la incorporación de vitamina E, sintética o natural, en la ración de las ovejas. Sin embargo es destacable numéricamente el mayor contenido en VA y menor contenido en ácidos grasos trans 10 que son variaciones asociadas a efectos beneficiosos para la salud humana cuando las raciones se suplementaron con Vitamina E. La incorporación de vitamina E, natural o sintética, redujo de manera significativa ($P < 0,05$) el contenido de los ácidos C18:2 n-6, ALA (C18:3 n-3) y C20:3 n-6. Por otro lado, el contenido en PUFA, PUFA n-3 y PUFA n-6 en la grasa de la leche, se redujo estadísticamente ($P < 0,05$) cuando la vitamina E, natural o sintética, se incorporó a la dieta de las ovejas. Además, dentro de los índices de calidad de la grasa de la leche, se observó una reducción significativa de la relación PUFA/SFA y un aumento significativo del índice de trombogenicidad. Pese a este empeoramiento encontrado en ambos índices, los

resultados obtenidos para todos los índices de calidad de la grasa se mantuvieron dentro de los valores recomendados para la salud humana. El tipo de vitamina E incorporada en la ración, sintética o natural, no dio lugar a diferencias estadísticamente significativas en el perfil de ácidos grasos de la leche producida.

La suplementación de la dieta de las ovejas en lactación con vitamina E, sintética o natural, permitió aumentar su contenido en la leche ($P < 0,001$). El contenido de vitamina E en la leche fue 2,69 veces superior al incluir vitamina E natural que al incluir vitamina E sintética. Este trabajo supone un punto de partida para la realización de nuevos estudios y, así, establecer el efecto de la vitamina E sobre la calidad tecnológica y vida útil de la leche de oveja y de los productos lácteos obtenidos.

Palabras clave: leche, oveja, vitamina E sintética, vitamina E natural.

ABSTRACT

Thirty six Churra ewes were used to study the effects of dietary supplementation of ewes with vitamin E (natural vs. synthetic) on milk yield and composition. The dietary treatments were: Control (without vitamin E), Sin-E (addition of 400 mg/kg TMR of synthetic vitamin E) and Nat E (addition of 400 mg/kg TMR of natural vitamin E). Neither the addition of vitamin E to diets with extruded linseed nor the type of vitamin E did influence significantly milk yield and production ($P > 0.05$). Vitamin E supplementation had a limited effect on milk fatty acids profile. Statistical differences were not found for saturated fatty acids and monounsaturated fatty acids ($P < 0.05$). Concerning monounsaturated fatty acids and polyunsaturated fatty acids, C18:2 n-6, ALA and C20:3 n-6 proportions were lower ($P > 0.05$). Vaccenic acid and *trans*-10 fatty acids were numerically different due to vitamin E supplementation. Moreover, significant decreases were observed for PUFA and PUFA n-6 sums ($P > 0.05$). Dietary vitamin E provided significantly decreased PUFA/SFA ratio and increased thrombogenicity index ($P < 0.05$). Nevertheless, all the milk fat ratios studied fluctuated in sufficiently low levels as recommended for human health. Results showed an increase in milk vitamin E concentrations ($P < 0.001$) conferred by the supranutritional vitamin E supplementation. In this sense, concentrations of vitamin E in milk were 2.69 times greater for ewes fed the natural vitamin E than for ewes fed the synthetic vitamin E.

Key words: milk, ewe, synthetic vitamin E, natural vitamin E.

1. INTRODUCCIÓN

El empleo de alimentos que permita mejorar el estado de salud y reducir el riesgo de padecer ciertas enfermedades asociadas a las principales causas de mortalidad en los países desarrollados tales como enfermedades cardiovasculares, diabetes, osteoporosis, hipertensión arterial, obesidad, infecciones gastrointestinales y algunos tipos de cáncer presenta un gran interés. De hecho, existen suficientes evidencias, derivadas de estudios epidemiológicos y clínicos, que consideran que la ingestión de ciertos alimentos puede reducir el riesgo de padecer las citadas enfermedades crónicas.

En la actualidad, existen algunos componentes de los alimentos que han demostrado tener efectos beneficiosos para la salud humana. Por ejemplo, se han identificado péptidos con actividad antihipertensiva e inmunomodulante, ácidos grasos poliinsaturados con potencial para reducir el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares, esteroides de plantas con posibilidad de inhibir la absorción del colesterol, componentes con actividad antioxidante y prebióticos y probióticos que podrían mejorar la flora intestinal.

Tradicionalmente, la leche ha sido reconocida como un alimento completo cuyo consumo implica el aporte de múltiples nutrientes (grasa, proteínas de elevado valor biológico, lactosa, minerales y vitaminas). De todos los constituyentes de la leche, los lípidos lácteos presentan un gran interés ya que, además de ser la grasa de mayor consumo a nivel mundial, determina las características físicas, de procesado y organolépticas de los productos lácteos, aspecto que resulta especialmente importante en el caso de la leche de oveja cuyo destino principal es la fabricación de queso.

A pesar de la importancia de la grasa de la leche, su consumo ha sido tradicionalmente asociado con la incidencia de algunas enfermedades debido a su elevado contenido en ácidos grasos saturados y colesterol y ha sido indiscriminadamente utilizada como argumento para relacionar la ingesta de leche y productos lácteos con enfermedades cardiovasculares (Juárez *et al.*, 2015).

Sin embargo, esta idea negativa de la grasa de la leche ha ido cambiando ya que se ha podido comprobar que algunos de los ácidos grasos saturados característicos de la leche de rumiantes, como es el caso del ácido esteárico, no presenta riesgo de enfermedad y que contiene otros ácidos grasos insaturados que son potencialmente beneficiosos para

la salud humana (Parodi, 2009). Entre estos ácidos grasos con propiedades bioactivas destacan algunos ácidos grasos poliinsaturados como son el ácido linoleico conjugado (CLA) y los ácidos grasos omega-3 lo que ha llevado a realizar numerosos estudios dirigidos a aumentar sus niveles en leche.

La alimentación del ganado es el factor con mayor influencia sobre la calidad de la leche, por ello, las estrategias nutritivas han sido las más utilizadas para modificar la grasa de la leche y adaptarla a las demandas de los consumidores. Una de las estrategias nutritivas más empleadas ha sido la inclusión de fuentes de grasas ricas en ácidos grasos poliinsaturados en las raciones de los rumiantes.

Diferentes estudios realizados en ganado ovino han podido demostrar que la utilización de grasas en las raciones permite aumentar en la leche los niveles de ácidos grasos asociados con efectos beneficiosos para la salud humana (Manso *et al.*, 2016). Así, el empleo en las raciones de ganado ovino de semillas extrusionadas de lino, ricas en ácido α -linolénico (C18:3 n-3), ha sido una de las posibles estrategias de alimentación que permite incrementar los niveles de CLA y ácidos grasos poliinsaturados n-3 en la grasa de la leche (Gómez-Cortes *et al.*, 2014).

Sin embargo, el aumento en el grado de insaturación de la grasa de la leche, la hace también más susceptible a la oxidación, lo que implica el desarrollo de olores y sabores desagradables en los alimentos, acortando de esta manera su vida útil. Para evitar este problema, la utilización de antioxidantes en las raciones de rumiantes se ha convertido en una de las estrategias más comúnmente utilizadas para prevenir la oxidación lipídica de la leche e incrementar así la vida útil de los productos lácteos.

El antioxidante más utilizado en alimentación animal es el acetato de α -tocoferol de síntesis (vitamina E sintética) que, además de tener un origen sintético, presenta una eficacia limitada en algunas ocasiones, por lo que existe un gran interés por utilizar antioxidantes de origen natural.

Uno de los antioxidantes disponibles en el mercado para alimentación animal es la vitamina E de origen natural. Además de retrasar los procesos de oxidación, trabajos previos realizados en ganado vacuno han podido demostrar que la vitamina E en la dieta

de rumiantes podría modificar las rutas de biohidrogenación de los ácidos grasos a nivel ruminal evitando la producción de ácidos grasos *trans* 10 asociados a efectos negativos sobre la salud humana, a reducciones en el contenido en grasa de la leche, y por lo tanto, la producción y composición de la leche (Pottier *et al.*, 2006). Hasta el momento, son escasos los trabajos que han estudiado los efectos de la vitamina E sobre los rendimientos productivos y la composición de la grasa de la leche de oveja, así como sobre la transferencia del α -tocoferol de la dieta a la leche (O'Donnell *et al.*, 2012).

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores, la hipótesis de partida de este trabajo es que la utilización de vitamina E en raciones enriquecidas con ácido α -linolénico puede afectar la producción y composición de la leche de oveja y modificar los niveles de antioxidantes presentes en la leche en función de la actividad biológica del antioxidante empleado.

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar el efecto de la suplementación con vitamina E, natural o sintética, de raciones de ganado ovino enriquecidas en ácido α -linolénico procedente de semillas extrusionadas de lino, durante la fase intermedia de lactación, sobre la producción y composición de la leche y sobre la transferencia de la vitamina E de la dieta a la leche.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Los antioxidantes: la vitamina E

Los antioxidantes comprenden un grupo de compuestos muy heterogéneo, que pueden ser de procedencia endógena o exógena, de naturaleza hidrofílica o lipofílica y actuar mediante procesos mediados o no por enzimas. Aunque existen distintas clasificaciones, la más extendida es la que diferencia entre antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos. Los primeros están formados por un grupo de enzimas que catalizan la transferencia de electrones desde un sustrato hasta los radicales libres, entre los que se encuentran las enzimas superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión transferasa y catalasa. Desde el punto de vista de la solubilidad, los antioxidantes no enzimáticos pueden ser hidrosolubles (ácido ascórbico, glutatión, ferritina, transferrina, lactoferrina, ceruloplasmina, ácido úrico, ergotioneína y polifenoles) y liposolubles (carotenoides, vitamina A, coenzima Q y vitamina E).

Un antioxidante ideal debe cumplir como requisitos ser inocuo, no altera las propiedades organolépticas del alimento, ser efectivo a bajas concentraciones, ser fácil de incorporar al producto y tener una buena distribución en el mismo, ser estable durante el procesado y almacenamiento y estar disponible a bajo coste (Apeleo, 2016).

La vitamina E es el principal antioxidante utilizado en alimentación animal, que actúa de forma coordinada con toda una serie de mecanismos biológicos de protección frente a la oxidación (Tabla 2.1.), lo que incluye otras vitaminas (vitamina A, β -caroteno, vitamina C) y enzimas, como la catalasa, la superóxido dismutasa (dependiente de Zn y Cu), la glutatión peroxidasa (dependiente del Se), etc.

El término vitamina E se emplea de forma genérica para todas las moléculas, de funciones biológicas similares, derivadas del tocoferol y tocotrienol. Los tocoferoles y tocotrienoles son semejantes en estructura, ya que ambos constan de un núcleo de hidroquinona con una cadena lateral en posición C2 (Scherf *et al.*, 1996). Sin embargo, se diferencian en que los tocoferoles tienen una cadena lateral de fitilo saturada, mientras que los tocotrienoles poseen una cadena lateral de isoprenoide insaturada que contiene tres dobles enlaces (Traber, 2012).

Tabla 2.1. Sistemas antioxidantes de las células de los mamíferos.

Componente y localización	Nutrientes	Función
Superóxido dismutasa (citosol)	Cu y Zn	Enzima que convierte superóxido a peróxido de hidrógeno
Superóxido dismutasa (mitocondria)	Mn y Zn	Enzima que convierte superóxido a peróxido de hidrógeno
Ceruloplasmina	Cu	Proteína que previene la participación del cobre en las reacciones de oxidación
Glutación peroxidasa (citosol)	Se	Enzima que convierte el peróxido de hidrógeno en agua.
Catalasa (citosol)	Fe	Enzima que convierte el peróxido de hidrógeno en agua.
α -tocoferol (membranas celulares)	Vitamina E	Rompe las reacciones de peroxidación de los ácidos grasos
β -caroteno (membranas celulares)	Vitamina A	Previene la iniciación de las reacciones de peroxidación de los ácidos grasos

Adaptado de Castillo *et al.* (2013).

Los tocoferoles y tocotrienoles incluyen cada uno cuatro moléculas análogas (α -, β -, γ - y δ -), que se diferencian por la presencia de grupos metilo (-CH₃) en las posiciones R1, R2, y R3 del anillo cromanol (Figura 2.1.). El isómero que presenta la mayor actividad biológica es el α -tocoferol (Ortíz *et al.*, 2006), siendo también la forma más utilizada comercialmente para la suplementación de las dietas de los animales con vitamina E (Scherf *et al.*, 1996).

Cada una de las cuatro formas de tocoferol y tocotrienol presentan ocho estereoisómeros diferentes (RRR, RSR, RRS, RSS; SRR, SSR, SRS, SSS), en función de la posición y orientación de los grupos metilo en las cadenas laterales.

En la naturaleza, el α -tocoferol se encuentra en la forma RRR- (Scherf *et al.*, 1996), también denominada *d*- α -tocoferol. En esta forma los grupos metilo en los tres de los átomos de carbono asimétricos tienen la misma disposición espacial. La vitamina E de origen natural se obtiene mediante la extracción de los tocoferoles de los aceites vegetales (soja, girasol, palma, etc.) por un proceso de destilación.

Por el contrario, la forma sintética del α -tocoferol, etiquetada como *all-rac*- o *dl*- α -tocoferol, tiene una proporción igual de las configuraciones R y S en cada uno de los tres carbonos quirales, dando como resultado una mezcla equimolar de los ocho

estereoisómeros posibles de α -tocoferol (Dersjant-Li y Peisker, 2010). El acetato de *all-rac*- α -tocoferol se sintetiza mediante un proceso químico complejo.

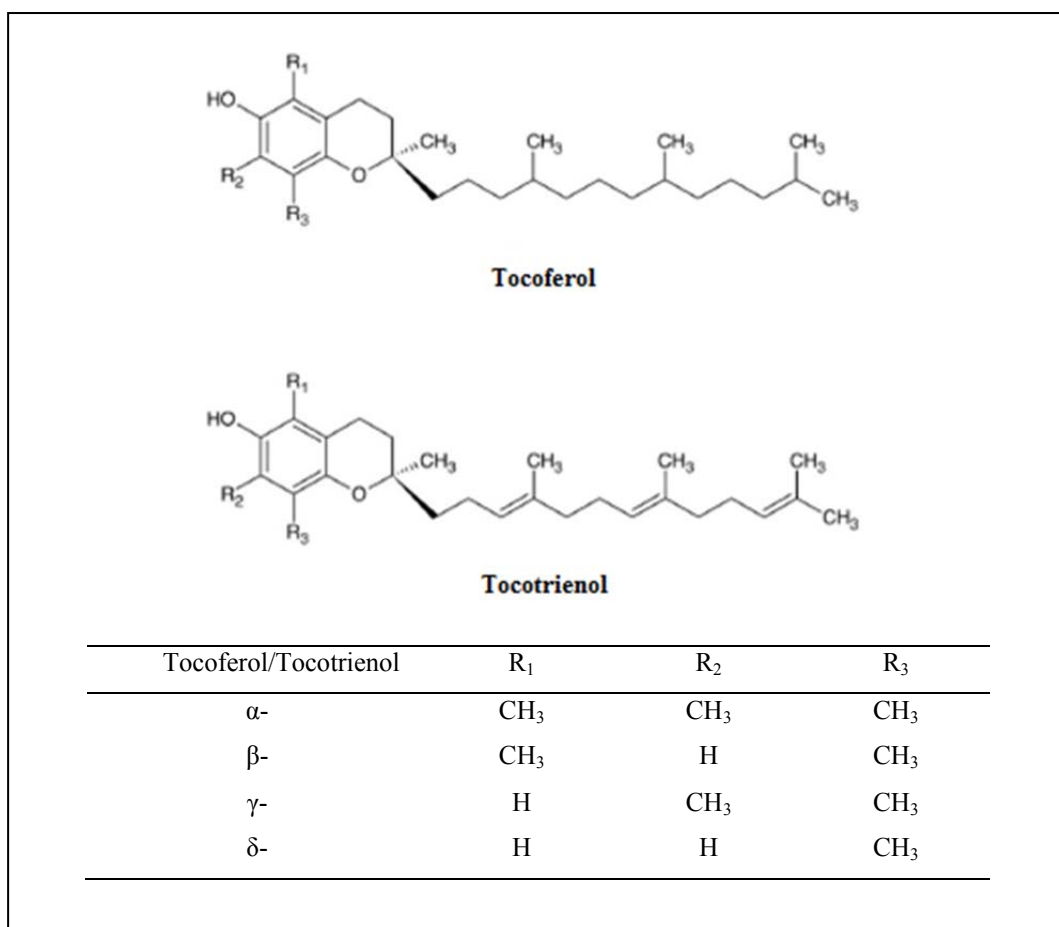


Figura 2.1. Estructura de las distintas moléculas que se incluyen en el término de la vitamina E. Adaptado de Kashiwagi y Huang (2012).

La Unidad Internacional (UI) establecida para la vitamina E se basa en la actividad biológica de 1 mg del acetato de *all-rac*- α -tocoferol; partiendo de esta base (1 mg de acetato de *all-rac*- α -tocoferol = 1 IU), el *dl*- α -tocoferol tiene una actividad biológica de 1,1 UI / mg, el acetato de RRR- α -tocoferol de 1,36 IU / mg, y el RRR- α -tocoferol, de 1,49 IU / mg de vitamina E (NRC, 2007).

Diversos estudios en vacuno y ovino, demostraron que el acetato de RRR- α -tocoferol de origen natural posee una mayor bioactividad, incrementado las concentraciones de α -tocoferol en la leche, calostro y plasma, en comparación con el acetato de *all-rac*- α -tocoferol sintético (Weiss *et al.*, 2009). Más allá del origen natural o sintético, otros factores como el tipo de éster y el soporte utilizado también determinan la biopotencia

de la vitamina E. Así, Hidiroglou y Singh (1991) observaron en ovejas que la actividad biológica del acetato de *dl*- α -tocoferol era tres veces superior a la del succinato de *d*- α -tocoferol.

Los forrajes verdes son ricos en α -tocoferol, especialmente las hojas, disminuyendo su proporción a medida que las plantas se aproximan a la madurez fenológica. Esta concentración también es mucho mayor en el pasto fresco que en los forrajes procesados.

Los aceites vegetales naturales contienen diferentes mezclas de tocoferoles y tocotrienoles en proporción variable. En la Tabla 2.2. se muestra la concentración individual y total de tocoferoles en algunos aceites vegetales. Como se puede apreciar, la cantidad de α -tocoferol es superior en los aceites de girasol y de maíz, mientras que los aceites de soja y maíz tienen una mayor presencia de γ -tocoferol.

Tabla 2.2. Concentración de tocoferol en distintos aceites vegetales (mg/kg).

Aceite	α -tocoferol	γ -tocoferol	δ -tocoferol	Tocoferol total
Canola	120,3	122,0	-	-
Girasol	432,3	92,3	2,7	535
Maíz	173,0	259,7	30,0	829
Soja	71,3	273,3	182	829
Semilla de uva	103	-	3,4	121
Oliva	163	14	1,6	177
Linaza	12	520	9,5	540

Datos tomados de Gliszczyńska-Świgło *et al.* (2007); Schwartz *et al.* (2008); Grilo *et al.* (2014).

Los granos de cereales también son ricos en vitamina E, siendo su contenido en los granos de cebada y trigo similar al de la hierba verde, al contener principalmente α -tocoferol, mientras que otros como el maíz destacan además por la presencia de cantidades considerables de γ -tocoferol (McDonald, 2011). En los productos animales, los contenidos de esta vitamina son relativamente bajos, y las cantidades guardan relación con los niveles vitamínicos de las raciones suministradas.

Comercialmente, existen varios productos que pueden ser utilizados para la suplementación de dietas de pequeños rumiantes con vitamina E. Generalmente, es el acetato de *all-rac*- α -tocoferol la forma más ampliamente utilizada, debido a su

estabilidad, a que es fácilmente hidrolizable en el tracto digestivo y a su menor coste (McDowell *et al.*, 1996; Meglia *et al.*, 2006; Vagni *et al.*, 2011).

2.1.1. Absorción y metabolismo

En la absorción de la vitamina E participan sales biliares, lipasa pancreática y enzimas esterazas. La mayoría de la vitamina E se absorbe en los dos tercios superiores del intestino delgado (Bjørneboe *et al.*, 1990). Los ésteres de tocoferol se hidrolizan en gran parte en el lumen intestinal. Las células intestinales (enterocitos) absorben la vitamina E en asociación con micelas lipídicas. Este hecho explica que la absorción de vitamina E se vea favorecida por la presencia de grasa en la ración. Una vez dentro de los enterocitos, la vitamina E se incorpora a los quilomicrones, que luego son absorbidos por el sistema linfático, y transportados en lipoproteínas (Brigelius-Flohé y Traber, 1999; Traber y Arai, 1999). Los quilomicrones son a su vez parcialmente hidrolizados y absorbidos por los tejidos, principalmente el hígado. Todos los tejidos y órganos del cuerpo acumulan vitamina E, pero la mayor acumulación se registra en el tejido adiposo, músculo esquelético e hígado (Bjørneboe *et al.*, 1990).

En los rumiantes, la absorción de tocoferol dietético es muy escasa, debido a su destrucción microbiana en el rumen (Rammel, 1983). Sin embargo, Weiss *et al.* (1995), han constatado que suministrando la vitamina E de forma estabilizada, en forma de acetato de *dl*- α -tocoferol, la degradación existente en el rumen es prácticamente nula. Además, la absorción de la vitamina E también varía dependiendo del tipo de éster de α -tocoferol empleado en la dieta, así como por otros factores, tales como la digestión de la grasa y la función hepática (Bjørneboe *et al.*, 1990).

El hígado acumula vitamina E y la exporta en combinación con las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) junto con la participación de la enzima α -tocoferol transferasa (α -TTP), para su uso por otros tejidos. Una vez en la sangre, este compuesto es hidrolizado, y la vitamina E se incorpora a los diferentes tejidos extra-hepáticos (Traber y Arai 1999).

La proteína transportadora α -TTP presenta una mayor afinidad por las formas α - de los tocoferoles y por los isómeros 2R de α -tocoferol (Brigelius-Flohé y Traber, 1999; Traber, 2012). Meglia *et al.* (2006) han demostrado que, tras la administración de

vitamina E sintética en una dieta de vacuno, el isómero RRR- α -tocoferol contribuye, como mínimo, al 86% del tocoferol del plasma y de la leche. Este hecho explica porque tiene mayor afinidad cuando el anillo cromanol se encuentra totalmente metilado y cuando el radical metilo localizado en la posición 2 de la cadena lateral se encuentra en forma R. Por esta razón, el α -tocoferol es la forma de vitamina E que más actividad biológica tiene, al ser la forma RRR- α -tocoferol preferentemente incorporada a la lipoproteína.

2.1.2. Funciones

La vitamina E es un antioxidante presente en las membranas biológicas, que permite romper las reacciones en cadena que se propagan por los radicales libres. Reacciona con moléculas oxidantes y protege las membranas celulares de la peroxidación de lípidos, atrapando radicales peroxilo.

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) que constituyen las membranas celulares juegan un papel importante en la generación de compuestos metabólicamente muy activos. La función de la vitamina E consiste en proteger frente a la oxidación los PUFA de los fosfolípidos y las lipoproteínas de las membranas celulares (Debiez *et al.*, 2005). La vitamina E permite mantener la integridad estructural de las membranas, eliminando los radicales libres y manteniendo así la integridad de los órganos y sistemas.

Por otra parte, los PUFA de la membrana biológica son particularmente sensibles al ataque de los radicales libres, ya que éstos les extraen un electrón de hidrógeno y los convierten en un radical PUFA. Frente a esta situación, como se puede observar en la Figura 2.2., la vitamina E dona el electrón de H de su grupo hidroxifenólico formando así un compuesto lipídico más estable (radical α -tocoferilo). La vitamina E, al donar su electrón se transforma a su vez en un radical libre inactivo. La vitamina C que actúa junto con la vitamina E, dona un electrón al radical α -tocoferilo el cual recupera su estado anterior con nueva capacidad antioxidante (Kashiwagi y Huang, 2012).

Esta acción protectora oxidativa se relaciona con mejoras sobre la capacidad reproductiva, menor incidencia de metritis y mastitis y menor tasa de retención placentaria (Politis, 2012). Otras investigaciones han indicado que la vitamina E también está involucrada en la regulación de la señalización celular y la expresión

genética (Azzi *et al.*, 2004). También juega un papel importante en el desarrollo y buen funcionamiento del sistema inmunológico (Pekmezci, 2011; Dønnem *et al.*, 2015).

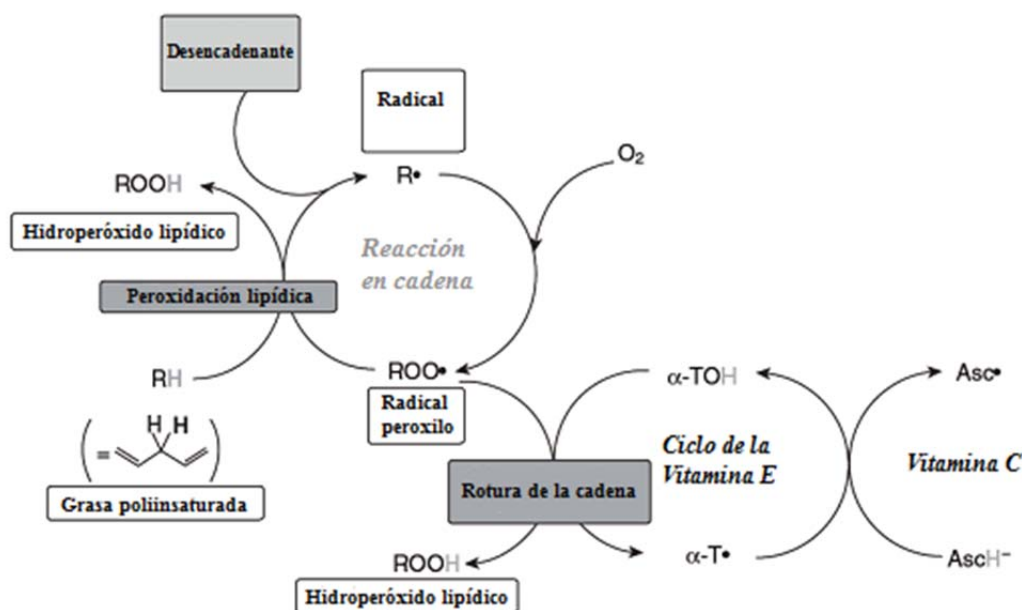


Figura 2.2. Regeneración de la vitamina E. Adaptado de Traber (2012).

Por último, otras evidencias indican que en las ovejas existe una transferencia placentaria apreciable de vitamina E (Capper *et al.*, 2005; Dønnem *et al.*, 2015), con un aumento de las concentraciones musculares y cerebrales en los corderos nacidos de ovejas alimentadas con niveles más altos de esta vitamina. Por ello, el estado inmune del feto se ve afectado por el estado de la vitamina E de la madre al final de la gestación. Así mismo, el calostro es una fuente muy importante de la vitamina E para el recién nacido y para su correcto estado inmune (muy rico en tocoferol e inmunoglobulinas).

2.1.3. Necesidades nutritivas

Las necesidades nutritivas de vitamina E no han sido definidas con total exactitud, debido a la dificultad existente por su interrelación con otros factores de la dieta. De acuerdo con el NRC (2007), los requerimientos mínimos para ovejas en crecimiento y gestantes son de 10 y 15 mg de vitamina E por kg de materia seca (MS), aunque distintos factores pueden incrementar estas cantidades. En este sentido, valores de

vitamina E comprendidos entre 15 y 30 mg por kg de MS pueden ser insuficientes en dietas deficitarias en selenio (con niveles inferiores a 0,05 mg/kg).

El contenido en PUFA de la dieta también afecta a las necesidades de vitamina E. En este sentido, la inclusión en la dieta de corderos de aceites ricos en PUFA, tales como aceite de hígado de bacalao, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de soja, aceite de semilla de girasol o aceite de linaza exigen un aumento de vitamina E (Demirel *et al.*, 2004).

Otros factores, como distintos tipos de estrés (incluyendo temperaturas extremas, interacciones sociales de dominancia, de privación de alimento o de agua, transporte, manipulación, exposición a enfermedades o traumatismos y toxinas) también contribuyen a un aumento de las necesidades de vitamina E.

El almacenamiento de vitamina E en los tejidos dificulta aún más la determinación de los requisitos mínimos de estos nutrientes. Los estudios a corto plazo pueden no tener en cuenta los efectos de las reservas de nutrientes de los tejidos y por lo tanto que las necesidades dietéticas de ambos nutrientes sean subestimadas.

Por consiguiente, en la práctica el NRC aconseja niveles superiores a los mínimos recomendados para evitar posibles patologías asociadas a deficiencias debido a los factores comentados. En cualquier caso, los pequeños rumiantes que estén en pastoreo o que reciban una cantidad adecuada de alimento verde, deberían presentar unos niveles adecuados de vitamina E (Hemingway, 2003).

2.2. Composición de la leche de oveja

Según el Código Alimentario Español (Real Decreto 2484/1967, de 21 de septiembre) se entiende por leche natural, el producto íntegro no alterado ni adulterado y sin calostro, del ordeño higiénico, regular, completo e ininterrumpido de las hembras mamíferas sanas y bien alimentadas.

La leche de oveja, a diferencia de la leche de vaca, que se destina en su mayoría al consumo del producto líquido, suele ser utilizada fundamentalmente para la elaboración de quesos y otros productos lácteos derivados. El rendimiento quesero de la leche depende de la composición química, especialmente de su contenido en grasa y proteína.

A nivel bioquímico, la leche de oveja es una mezcla de sustancias que se encuentran en tres fases distintas: emulsión (grasa y vitaminas liposolubles), suspensión (proteínas y sales minerales unidas a micelas de caseína) o solución verdadera (lactosa, minerales, compuestos nitrogenados no proteicos y vitaminas hidrosolubles) (Pulina y Nudda, 2004).

En la Tabla 2.3. se muestra la composición media de nutrientes de la leche de oveja, cabra y vaca. La leche de oveja presenta un mayor contenido en sólidos totales, grasa y proteína que la leche de vaca o cabra, lo que le confiere una mejor calidad desde el punto de vista tecnológico para la elaboración de quesos y otros productos lácteos.

Tabla 2.3. Composición química media de la leche de oveja, cabra y vaca.

Composición	Oveja	Cabra	Vaca
Grasa (%)	7,9	3,8	3,6
Sólidos no grasos (%)	12,0	8,9	9,0
Lactosa (%)	4,9	4,1	4,7
Proteína (%)	6,2	3,4	3,2
Caseína (%)	4,2	2,4	2,6
Albúmina, globulina (%)	1,0	0,6	0,6
Nitrógeno no proteico (%)	0,8	0,4	0,2
Cenizas (%)	0,9	0,8	0,7

Fuente: Park *et al.* (2007).

La composición de la leche varía con diversos factores como la dieta, la raza, los individuos, el número de parto, la época del año, el manejo, las condiciones ambientales, el estado de lactación y el estado sanitario de la ubre (Park *et al.*, 2007).

2.2.1. Grasa

Los lípidos son uno de los componentes más importantes de la leche por las características físicas y sensoriales que confieren a productos lácteos de oveja y por sus propiedades nutricionales (Sanz Sampelayo *et al.*, 2007).

El componente principal de la grasa de la leche son los triacilglicérols, los cuales representan alrededor del 98% del total. La estructura de los TAG de la leche es la responsable de las propiedades reológicas de la grasa de leche y su comportamiento durante la fusión y la cristalización (Park *et al.*, 2007). El resto de constituyentes de la grasa de la leche lo conforman otros lípidos simples (diacilglicérols, monoacilglicérols, ésteres de colesterol, etc.), lípidos complejos (fosfolípidos) y compuestos liposolubles (esteroles, ésteres de colesterol, hidrocarburos) (Haenlein y Wendorff, 2006).

Los lípidos en la leche se encuentran en forma de pequeños glóbulos grasos. El tamaño medio del glóbulo graso de la leche de oveja suele ser inferior a 3,5 μm de diámetro, siendo el más pequeño de la leche de los rumiantes (Recio *et al.*, 2009). Esta característica proporciona una mejor digestibilidad a este tipo de leche, así como un metabolismo de los lípidos más eficiente.

Diversos estudios apuntan a que la grasa de la leche de los rumiantes contiene más de 400 ácidos grasos (AG) diferentes (Jensen, 2002), aunque sólo un número próximo a 30 se encuentran en una proporción superior al 0,1%.

Los AG utilizados en la síntesis de los triglicéridos de la grasa de la leche, tienen tres orígenes: síntesis *de novo*, captación plasmática, y desaturación *in situ*. De acuerdo con Chilliard *et al.* (2000), aproximadamente el 60% de los AG presentes en la grasa láctea son captados de la sangre y el 40% son sintetizados *de novo* en la glándula mamaria.

Las particularidades de la digestión en rumiantes hacen que el contenido de AG de cadena corta y media en la grasa de la leche sea elevado, siendo superior en leche de

oveja que en la leche de vaca (20-25% frente a 10-12%). Es de destacar que la suma de cinco AG (C10:0, C14:0, C16:0, C18:0, and C18:1) suponen más del 75% del total de AG en la leche de cabra y oveja (Park *et al.*, 2007). La concentración en AG de cadena ramificada (*iso*-C14:0, *iso*- y *anteiso*-C15:0, *iso*-C16:0, *iso*- y *anteiso*-C17:0) en la leche de oveja supone alrededor de un 2% del total de AG (Goudjil *et al.*, 2004). La mayor presencia de AG de cadena corta y media ha sido asociada a las características organolépticas de los productos lácteos obtenidos (Chilliard *et al.*, 2003).

En la Tabla 2.4. se presenta la composición media en AG de la leche de oveja. La leche de rumiantes contiene en torno a un 4-5% del total de AG en forma de PUFA, siendo los más importantes el ácido linoléico (C18:2) y el ácido linolénico (C18:3), y un 21-25% de ácidos grasos moninsaturados (MUFA), siendo el más abundante el ácido oléico (C18:1). Por otra parte, también contiene un 70-75% de AG saturados, siendo los más importantes desde el punto de vista nutritivo el palmítico (C16:0) y el esteárico (C18:0) (Bouattour, 2007).

Tabla 2.4. Valores medios, mínimos y máximos de los principales ácidos grasos en la leche de oveja (% sobre metilésteres de ácidos grasos).

Ácido graso	Media	Mínimo-Máximo
C4:0	3,51	3,07-3,93
C5:0	0,02	0,02-0,03
C6:0	2,90	2,68-3,44
C7:0	0,04	0,01-0,05
C8:0	2,64	2,10-3,27
C9:0	0,07	0,03-0,08
C10:0	7,82	5,54-9,73
C10:1	0,26	0,23-0,31
C11:0	0,09	0,04-0,14
C12:0	4,38	3,48-4,92
C12:1	0,04	0,03-0,05
C13:0	0,17	0,13-0,22
<i>iso</i> -C14:0	0,11	0,08-0,14
C14:0	10,43	9,85-10,66
<i>iso</i> -C15	0,34	0,26-0,43
<i>anteiso</i> -C15:0	0,47	0,33-0,60

Tabla 2.4. Continuación.

Ácido graso	Media	Mínimo-Máximo
C14:1	0,28	0,19-0,50
C15:0	0,99	0,89-1,11
<i>iso</i> -C16:0	0,21	0,17-0,26
C16:0	25,93	22,47-28,17
<i>iso</i> -C17:0	0,53	0,44-0,59
<i>anteiso</i> -C17:0	0,30	0,26-0,36
C16:1	1,03	0,74-1,27
C17:0	0,63	0,58-0,70
C17:1	0,20	0,17-0,22
C18:0	9,57	8,51-11,04
C18:1 (total)	21,10	17,77-23,02
C18:2 (total)	3,21	2,89-3,57
C20:0	0,45	0,36-0,52
C18:3 (total)	0,80	0,52-1,04
C20:1	0,06	0,05-0,08
C18:2 CLA	0,74	0,56-0,97
C22:0	0,20	0,14-0,26
C23:0	0,16	0,11-0,22
C20:4	0,06	0,03-0,08
C24:0	0,03	0,10-0,22

Datos tomados de Goudjil *et al.* (2004).

Dentro de los PUFA, tiene especial importancia el ácido linoleico conjugado (CLA), que describe una mezcla de isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico, que comprende a todos los ácidos octadecadienoicos (C18:2) con un sistema de doble enlace conjugado (*cis-cis*, *cis-trans*, *trans-cis*, *trans-trans*). Su biosíntesis se debe, por un lado, a la biohidrogenación incompleta de los PUFA de la dieta en el rumen y, por otro lado, a procesos de desaturación que tienen lugar en la glándula mamaria (Palmquist *et al.*, 2005).

La leche de oveja es la que posee, de media, los contenidos más altos de CLA (1,2 % del total de los ácidos grasos), seguida de la de vaca y cabra (0,7 y 0,6 %, respectivamente) (Recio *et al.*, 2009). El isómero del CLA cuantitativa y cualitativamente más importante en la leche de oveja es el ácido ruménico (*cis*-9, *trans*-11 C18:2, RA) el cual representa entre el 78 y el 89% del CLA total (Antongiovanni *et al.*, 2004) (Tabla 2.5.). Otros isómeros del CLA están presentes en la grasa de la leche pero en pequeñas cantidades como se puede observar en la Tabla 2.5.

Diferentes estudios *in vitro* y en modelos animales sugieren que el RA es responsable de procesos antiaterogénicos y anticancerígenos (Juárez *et al.*, 2015). Además, otros trabajos han concluido que el CLA también tiene un papel importante en la mejora de la respuesta inmunitaria y en la prevención de la diabetes mellitus, así como su capacidad para disminuir la grasa corporal y favorecer la absorción de calcio (Benjamin y Spener, 2009).

Tabla 2.5. Isómeros del ácido linoleico conjugado (% del total de CLA) en la grasa de la leche de oveja.

Isómeros	Oveja
<i>trans</i> -12, <i>trans</i> -14	1,3-3,5
<i>trans</i> -11, <i>trans</i> -13	1,2-5,1
<i>trans</i> -10, <i>trans</i> -12	1,2-1,8
<i>trans</i> -9, <i>trans</i> -11	1,1-2,0
<i>trans</i> -8, <i>trans</i> -10	1,0-1,4
<i>trans</i> -7, <i>trans</i> -9	0,5-0,6
11-13 (<i>c,t</i> / <i>t,c</i>)	0,8-4,2
10-12 (<i>c,t</i> / <i>t,c</i>)	0,3-0,4
9-11 (<i>c,t</i> / <i>t,c</i>)	76,5-82,4
7-9 (<i>c,t</i> / <i>t,c</i>)	3,3-9,7

Datos tomados de Luna *et al.* (2005).

Por último, los PUFA n-3 también han suscitado un gran interés científico en las últimas décadas, debido a las propiedades beneficiosas para la salud y su eficacia en la prevención de diferentes enfermedades cardiovasculares, algunos tipos de cáncer, asma, artritis reumatoide y osteoporosis, entre otras (Gómez Candela *et al.*, 2011). El ácido α -linolénico (18:3 n-3, ALA) es el PUFA n-3 más abundante en la leche de oveja, y el único que está presente de forma natural. Otros PUFA n-3 importantes son el docosahexaenoico (22:6 n-3, DHA) y el eicosapentaenoico (20:5 n-3, EPA), a los que se han asociado propiedades saludables por sus efectos beneficiosos sobre el sistema cardiovascular y la respuesta inmune. Sin embargo, los contenidos de estos ácidos en la leche apenas alcanzan el 0,1%, por lo que existe un gran interés por aumentar sus niveles en leche (Lock y Bauman, 2004).

2.2.2. Proteína

Las proteínas en la leche de oveja suponen aproximadamente un 95% del nitrógeno total de la leche, mientras que el 5% restante corresponde a nitrógeno no proteico.

Las distintas fracciones proteicas presentes en la leche se clasifican en dos grandes grupos: caseínas y proteínas séricas. Las caseínas (α_{S1} -CN, α_{S2} -CN, β -CN y k -CN) son las principales proteínas presentes en la leche de oveja (76-83% de las proteínas totales). Este grupo de proteínas se caracteriza por presentar uniones éster-fosfato, un alto contenido en prolina y bajo en cisteína. La heterogeneidad de las caseínas se determina tanto por la presencia de variantes genéticas como por otros factores tales como por un discreto nivel de fosforilación, la variación en el grado de glicosilación de la fracción k -CN, y la coexistencia de proteínas con diferentes longitudes de cadena. (Park *et al.*, 2007).

Dentro de las proteínas del suero, la leche de oveja contiene más β -lactoglobulina, y α -lactoalbúmina, y menores proporciones de seroalbúmina e inmunoglobulina que la leche de vaca. Las proteínas del suero suponen entre un 17 y un 22% del total de proteínas. La leche de oveja también contiene más urea y ácido úrico que la leche de vaca y cabra.

Tal y como se puede observar en la Tabla 2.3, a pesar de que la leche de oveja contiene aproximadamente el doble de proteína total que la leche de vaca, el ratio caseína y proteínas del suero en vaca y oveja son similares. Las micelas de caseína de la leche de oveja poseen una estructura similar a las de la leche de vaca, sin embargo existen diferencias en cuanto a su diámetro medio, el grado de hidratación y mineralización (Park *et al.*, 2007).

Se ha comprobado que conforme disminuye la producción de leche durante la lactación, la concentración de proteína total de la leche aumenta al igual que la grasa y los sólidos totales. Además, la concentración de caseína muestra una alta correlación con el contenido de proteína total (Othmane *et al.*, 2002), por lo que también se ve incrementada conforme avanza la lactación.

La leche de los rumiantes es rica en nucleótidos y ribonucleósidos, principalmente contiene uridina monofosfato (UMP), adenosina monofosfato (AMP) y citidina

monofosfato (CMP), aunque la leche de oveja y de cabra contiene además uridina difosfato (UDP). Estas moléculas, como parte de los ácidos nucleicos, pueden contribuir a la renovación o restauración de las células, especialmente en la mucosa intestinal (Raynal-Lietuvac *et al.*, 2008).

Por último, se encuentran los aminoácidos no esenciales libres, entre los que destaca la taurina producida a partir de la cisteína, desempeñan un papel en la visión, y en las funciones cerebrales y cardíacas, así como en la detoxificación y asimilación de los ácidos grasos (Raynal-Lietuvac *et al.*, 2008).

Además de su interés nutricional, las proteínas lácteas pueden ser precursoras de diversos componentes biológicamente activos, conocidos como péptidos bioactivos. Estos péptidos son fragmentos proteínicos que se forman mediante hidrólisis enzimática de las proteínas lácteas durante la digestión gastrointestinal y/o durante el procesado de ciertos productos lácteos. Destacan por sus propiedades antioxidantes, antitrombóticas e hipocolesterolémicas, así como por su papel como agentes antihipertensivos naturales (Michaelidou, 2008).

2.2.3. Hidratos de carbono

La lactosa es el principal carbohidrato presente en la leche de oveja, y supone alrededor de un 49 % de los azúcares totales. Es un disacárido formado por una molécula de glucosa y una de galactosa, y se sintetiza en la glándula mamaria con la participación activa de la proteína de la leche α -lactoalbúmina.

Entre sus funciones, se puede destacar que favorecen la absorción intestinal de minerales como Ca, Mg y P, y la utilización de la vitamina D (Recio *et al.*, 2009). Destaca su importancia para mantener el equilibrio osmótico entre la sangre y las células alveolares de la glándula mamaria durante la síntesis de la leche, y la secreción en la luz alveolar y el sistema de conductos de la ubre.

La lactosa en la leche de oveja, al igual que en otros rumiantes, es menor al comienzo y al final de la lactación y en el calostro, al contrario que los contenidos de grasa y proteína en la leche (Haenlein y Wendorff, 2006). Como se puede observar en la Tabla 2.3. el contenido en lactosa de la leche de oveja es similar al de la leche de vaca, sin

embargo, su proporción respecto a los sólidos totales es menor que en la leche de vaca (22-27% frente a 33-40%, respectivamente) (Ramos y Juárez, 2003).

Otros hidratos de carbono presentes en la leche de oveja son oligosacáridos, glicopéptidos, glicoproteínas, y los azúcares de nucleótidos. Los azúcares de nucleótidos en la leche son de particular interés, ya que son los precursores de las glicoproteínas, glicolípidos, y oligosacáridos en la biosíntesis de la leche.

2.2.4. Minerales

Los datos relativos a los elementos minerales mayoritarios y traza de la leche de oveja, vaca y cabra se muestran en la Tabla 2.6. Como se puede apreciar, la leche de oveja presenta mayores niveles de Ca, P, Mg y Zn que la leche de vaca, al contrario que para elementos como K, Na y Mn.

Tabla 2.6. Contenidos en minerales (por 100 g) de la leche de oveja, cabra y vaca.

	Oveja	Cabra	Vaca
Ca (mg)	193	134	122
P (mg)	158	121	119
Mg (mg)	18	16	12
K (mg)	136	181	152
Na (mg)	44	41	58
Cl (mg)	160	150	100
S (mg)	29	28	32
Fe (mg)	0,08	0,07	0,08
Cu (mg)	0,04	0,05	0,06
Mn (mg)	0,007	0,032	0,02
Zn (mg)	0,57	0,56	0,53
I (mg)	0,020	0,022	0,021
Se (μ g)	1,00	1,33	0,96

Datos tomados de Park *et al.* (2007).

El Ca y el P son dos minerales abundantes en la leche de oveja, y ambos alcanzan una alta biodisponibilidad. La mayor parte del Ca en la leche de oveja (75-88%) se encuentra en fase coloidal en comparación a un 62-76% en la leche de vaca (Wendorff, 2005).

Las concentraciones de macro-minerales en la grasa de la leche de oveja tienen una mayor tendencia a sufrir variaciones que en el caso de la leche de vaca, viéndose condicionadas en función de la raza, la dieta, el animal individual, fase de lactación y el estado de salud de la ubre (Recio *et al.*, 2009). Los minerales traza en la leche de oveja no han sido demasiado estudiados, a pesar del valor nutricional y la que pueden aportar.

2.2.5. Enzimas y vitaminas

La leche contiene diversas enzimas como fosfatasas, carbohidrasas, desmolasa, peroxidasa, reductasa, proteasa, etc. Estas enzimas carecen de valor nutritivo, aunque son útiles a efectos de inspección para realizar diversas reacciones de control y también desde el punto de vista tecnológico. La fosfatasa alcalina, perteneciente al grupo de las esterasas, se encuentra preferentemente en la membrana de los glóbulos grasos y se inactiva durante la pasterización. Cabe destacar que su concentración es aproximadamente tres veces mayor en la leche de oveja que en la leche de vaca (Wendorff, 2005). La Tabla 2.7. muestra los contenidos de vitaminas liposolubles e hidrosolubles en la leche de rumiantes.

Tabla 2.7. Contenidos en vitaminas (por 100 g) de la leche de oveja, cabra y vaca.

	Oveja	Cabra	Vaca
Vitaminas liposolubles			
A (UI)	146	185	126
D (UI)	0,18 μ g	2,3	2,0
E Tocoferol (mg)	0,11	0,04	0,11
Vitaminas hidrosolubles			
B ₁ Tiamina (mg)	0,08	0,068	0,045
B ₂ Riboflavina (mg)	0,376	0,21	0,16
B ₃ Niacina (mg)	0,416	0,27	0,08
B ₅ Ácido pantoténico (mg)	0,408	0,31	0,32
B ₆ Piridoxina (mg)	0,08	0,046	0,042
B ₈ Biotina (μ g)	0,93	1,5	2,0
B ₉ Ácido fólico (μ g)	5,0	1,0	5,0
B ₁₂ Cobalamina (μ g)	0,712	0,065	0,357
C Ácido ascórbico (mg)	4,16	1,29	0,94

Datos tomados de Park *et al.* (2007); Raynal-Lietuvac *et al.* (2008).

En general, la leche de oveja posee un contenido superior en la mayoría de vitaminas que la leche de vaca y cabra. Cabe destacar el alto contenido en vitaminas del grupo B, especialmente en ácido fólico. Además, es una fuente importante de vitaminas A y E. La vitamina E está presente en la leche en las formas α -, β - y γ -, siendo el α -tocoferol la forma más abundante (Revilla *et al.*, 2017). Existen pocos datos bibliográficos acerca del contenido vitamínico de la leche de oveja.

2.3. Factores que afectan a la producción y composición de la leche de oveja

2.3.1. Factores no nutricionales

La producción y composición de la leche de oveja puede verse influenciada por una serie de factores intrínsecos al animal entre los que se incluyen factores genéticos, fisiológicos y de manejo principalmente.

2.3.1.1. Factores genéticos

La raza de oveja determina en gran medida la cantidad y calidad de la leche producida. Como se puede observar en la Tabla 2.8. el contenido de proteína y grasa en la leche varía en función de la raza ovina, observándose un mayor contenido de grasa en ovejas Manchegas y un mayor contenido proteico en ovejas East Friesland (Pulina y Nudda, 2004).

Tabla 2.8. Contenido en grasa y proteína de la leche de algunas razas ovinas.

Raza	Grasa (%)	Proteína (%)	Fuente
Manchega	9,07	5,43	Pulina y Nudda (2004)
Lacaune	6,14	4,89	Ramírez Andrade <i>et al.</i> (2008)
Assaf	5,87	5,17	Toral <i>et al.</i> (2010a)
Latxa	6,07	4,35	García-Rodríguez <i>et al.</i> (2011)
Sarda	6,41	5,39	Pazzola <i>et al.</i> (2014)
Churra	8,43	5,18	Bodas <i>et al.</i> (2010)
Merino	7,67	5,66	Nudda <i>et al.</i> (2002)
Awassi	6,70	6,05	Pulina y Nudda (2004)
East Friesland	6,64	6,21	Pulina y Nudda (2004)

En las ovejas, las correlaciones fenotípicas y genéticas entre la concentración de grasa y proteína y la producción de leche son negativas (Pulina *et al.*, 2006), es decir, las razas más especializadas en producción de leche presentan contenidos de grasa y proteína en la leche más bajos. Estudios llevados a cabo en ovejas lecheras de raza Lacaune (Cottier, 1981), observaron que, cuando la producción de leche se incrementaba en un 40%, se producía una disminución en la proporción de grasa (-22%) y de proteína de la leche (-11%).

Otros parámetros como el número de glóbulos grasos/ml también parecen verse influenciado por la raza, y tiende a ser mayor en la ovejas de aptitud láctea (Martini *et al.*, 2006).

Otro factor genético que se ha estudiado en los últimos años es el gen SCD, que regula la actividad de la enzima enzima stearoyl-CoA desaturasa o Δ^9 desaturasa, e interviene en el proceso de biosíntesis de los MUFA, así como del RA (Palmquist *et al.*, 2005). Los polimorfismos del gen SCD están correlacionados con el grado de especialización lechera, con la síntesis de lípidos en la glándula mamaria y con el contenido en grasa de la leche (Oravcová *et al.*, 2007). Este factor es el principal responsable de la variación de los fenotipos observados en relación con el perfil de ácidos grasos de la grasa de la leche. En este sentido, Bauman *et al.* (2003) han observado en vacuno que su actividad puede presentar fuertes variaciones entre dos individuos de la misma raza llegando a duplicar o triplicar el contenido de RA en la grasa de leche.

2.3.1.2. Fase de lactación

La fase de lactación es un factor determinante en la producción y composición de la leche. La menor concentración de grasa y proteína se da generalmente en el pico de producción de leche, y va aumentando de forma continuada a medida que avanza la lactación, hasta el secado de las ovejas (Figura 2.3.).

Otros cambios que se producen durante el transcurso de de la lactación son un aumento del RCS y del contenido en Mg y Cl, y una disminución de la concentración de lactosa, y del contenido de K (Pulina y Nudda, 2004). En la Tabla 2.9. se presenta la evolución, del contenido en grasa y proteína de la leche de ovejas de raza Latxa (Barron *et al.*, 2001) y Manchega (Requena *et al.*, 1999).

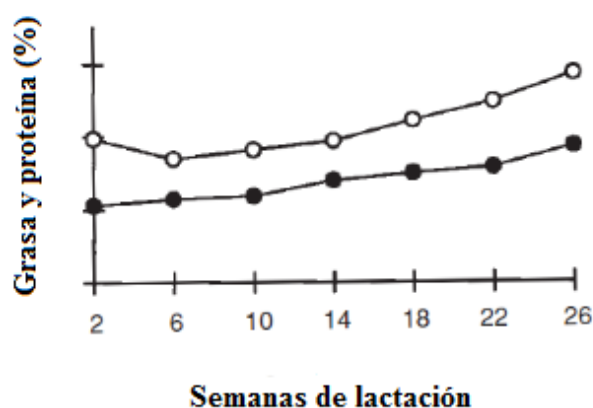


Figura 2.3. Variación en las concentraciones de grasa (°) y proteína (•) a lo largo de la lactación. Adaptado de Pulina y Nudda (2004).

Tabla 2.9. Evolución del contenido en grasa y proteína de la leche de ovejas Latxas y Manchegas en distintas fases de la lactación.

Componente	Temprana	Media	Tardía
Grasa % ^a	6,26	6,50	7,82
Proteína % ^a	4,98	5,36	5,61
Grasa % ^b	3,6	7,3	8,8
Proteína % ^b	5,1	5,4	6,3

Datos tomados de: ^aBarron *et al.* (2001); ^bRequena *et al.* (1999).

El perfil de los ácidos grasos de la leche de oveja también se ve influenciado por la fase de lactación. Los AG de cadena larga, principalmente palmítico, esteárico y oléico, presentan sus mayores valores después del parto, al inicio de la lactación, derivados de la movilización de la grasa corporal, ya que las ovejas en este momento poseen un balance de energía negativo (Bocquier y Caja, 2001; Pulina *et al.*, 2006). El contenido en ácidos grasos saturados de cadena corta y larga desciende significativamente a medida que avanza la lactación. Por otra parte, las concentraciones de los ácidos CLA y VA se incrementan a lo largo de la lactación (Kelsey *et al.*, 2003).

Por último, otro aspecto a destacar es que la fase de lactación también tiene una gran influencia sobre las características morfométricas de los glóbulos de grasa, dando lugar a una reducción en el diámetro medio y a un aumento de número / ml en su etapa final. (Martini *et al.*, 2006).

2.3.1.3. Frecuencia de ordeño

La frecuencia y el intervalo entre ordeños tienen una gran influencia en la cantidad y calidad de leche obtenida. Una frecuencia de ordeño baja produce una mayor cantidad de leche pero con menor contenido en materia grasa y en sólidos totales. Por el contrario, una frecuencia elevada de ordeño podría producir leche con un mayor contenido graso pero menos abundante (Bocquier y Caja, 2001).

El volumen cisternal de la glándula mamaria es un factor clave para explicar las diferencias en la respuesta a la reducción de la frecuencia de ordeño entre razas o individuos (McKusick *et al.*, 2002). Cuando se reduce la frecuencia de ordeño, es decir aumenta el intervalo entre ordeños, la leche se acumula en la glándula mamaria, aumentando de esta manera la presión intraalveolar, lo que hace que se frene la secreción de leche. Una mayor capacidad de almacenamiento de la leche en la cisterna permite reducir la presión ejercida sobre las células del epitelio alveolar. También se asocia a una mayor elasticidad de la glándula mamaria, lo que permite una mayor dilatación y por tanto la disminución de la presión intramamaria (Pulido *et al.*, 2012).

De acuerdo con el estudio realizado por Pulido *et al.* (2012), la reducción de la frecuencia de ordeño en ovejas Assaf de dos veces a una vez al día, redujo la producción de leche y la concentración de lactosa, y aumentó la proporción de proteínas, sólidos totales y RCS. En este caso, no se observó ningún efecto sobre el contenido de grasa. Por el contrario, otros estudios (McKusick *et al.*, 2002) han observado que al disminuir la frecuencia de ordeños, el porcentaje de grasa de la leche ordeñada disminuye, lo que sugiere que, al incrementar el número de ordeños diarios se podría producir leche con un mayor contenido graso. Se cree que la reducción del tiempo entre ordeños puede estimular la síntesis local de grasa en la glándula mamaria, aumentando la proporción de grasa en la fracción alveolar, con el consiguiente incremento de la grasa total de la leche (Labussiére, 1988).

2.3.1.4. Otros factores

Otros factores que condicionan la producción y composición de la leche de oveja son la edad del animal y el número de partos, observándose tanto a mayor edad como a mayor número de partos, un aumento en la concentración de grasa y proteína (Othmane *et al.*, 2002).

Por último, el estado sanitario de los animales es otro factor que tiene una gran influencia sobre la producción y composición de la leche, siendo la mamitis la enfermedad más frecuente en ovejas lecheras. Esta patología disminuye tanto la cantidad como la calidad de la leche producida, reduciendo el contenido en lactosa y grasa, y aumentando el recuento de células somáticas (RCS) y disminuyendo las propiedades de coagulación (Bianchi *et al.*, 2004).

2.3.2. Factores nutricionales

Numerosos estudios en ovejas lecheras han demostrado que la alimentación es uno de los factores más importantes que determinan la calidad de la leche. Esta influencia es especialmente significativa en el caso de la grasa de la leche, al ser el componente más fácilmente modificable a través de la alimentación. Por otro lado, la nutrición también tiene una influencia, aunque en menor medida, sobre la proteína total y sobre la concentración de minerales y vitaminas de la leche. Otros componentes como la lactosa apenas resultan modificables a través de la alimentación.

Debido a la importancia de la grasa de la leche en este trabajo, se estudian detalladamente los principales factores nutritivos que afectan al perfil de AG de la leche. Estos son, por un lado, la cantidad y el tipo de forraje suministrado y, por otro lado, el contenido y perfil de AG de las grasas utilizadas en la dieta de las ovejas, debido a su influencia en el proceso de biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados de la dieta en el rumen.

2.3.2.1. Forraje de la ración

La cantidad y calidad de la fracción fibrosa de la dieta de ovejas en lactación afecta al contenido de grasa de la leche producida y a su perfil de ácidos grasos (Sanz Sampelayo *et al.*, 2007). No todos los forrajes tienen el mismo efecto sobre la grasa de la leche, ya

que depende de la variedad, el grado de madurez y el método de conservación del forraje (Dewhurst *et al.*, 2006).

El forraje verde es una fuente rica en ácido α -linolénico (C18:3 n-3, ALA) siendo, por tanto, uno de los alimentos más eficaces para incrementar los niveles de ALA, RA y VA en la leche de rumiantes, así como para disminuir el contenido en AG de cadena corta y media (Chilliard *et al.*, 2007; Gómez-Cortés *et al.*, 2009a). Como se puede observar en la Figura 2.4. el ALA sirve como sustrato para la formación de ácido vaccénico (*trans*-11 C18:1, VA) en el rumen.

Las rutas de biohidrogenación de los ácidos linoleico y ALA de la dieta en el rumen involucran sucesivas etapas de hidrogenación e isomerización (Figura 2.4.), donde el producto final es el ácido esteárico. El ALA se biohidrogena de forma parcial a VA en el rumen y es secretado en la leche y parcialmente convertido en *cis*-9, *trans*-11 CLA en el tejido mamario por acción de la stearoyl-CoA desaturasa.

De acuerdo con estudios realizados por Addis *et al.* (2005) en ovejas lecheras, la ingestión de leguminosas forrajeras se ha asociado con altos niveles de CLA y ALA y con bajos niveles de AG saturados en la grasa de la leche, en comparación con la ingestión de gramíneas forrajeras. En concreto, se observó que la ingesta de *Chrysanthemum coronarium* L. favorecía la presencia de altas cantidades de CLA en la grasa de la leche, y que el consumo de *Hedysarum coronarium* L. forrajero aumentaba notablemente el contenido de ALA, llegando a 3 g / 100 g de grasa.

El contenido en PUFA del forraje varía dependiendo de su estado fenológico o grado de madurez. Así, durante la etapa vegetativa los forrajes contienen niveles superiores de PUFA mientras que durante la fase de senescencia o maduración se ven reducidos, lo que tiene una influencia directa en la composición de AG de la leche. Por lo tanto, el estado fenológico de los forrajes se considera como un factor de importancia en el momento de la elaboración de henos o ensilados (Dewhurst *et al.*, 2006).

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

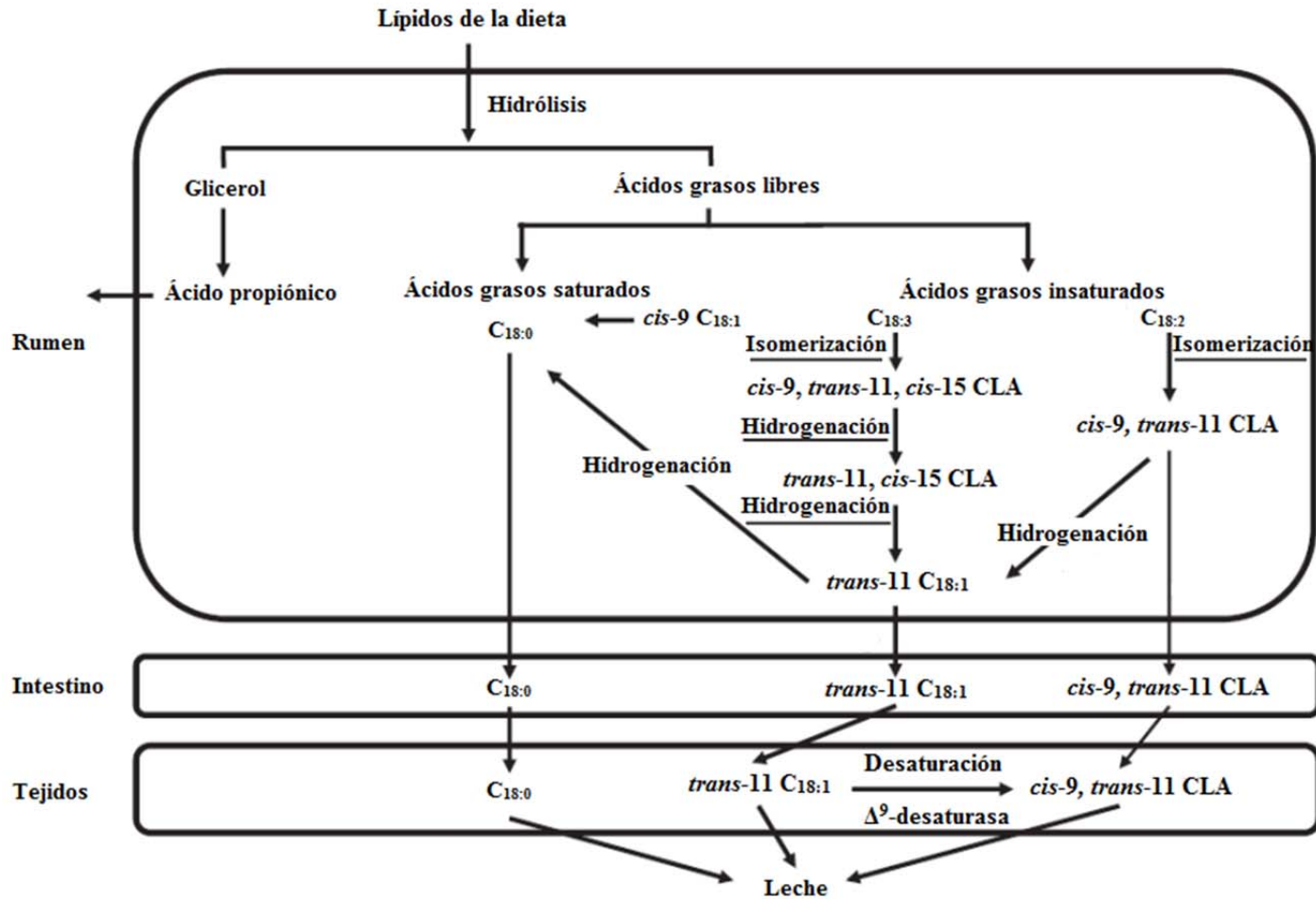


Figura 2.4. Rutas principales de biohidrogenación de los lípidos de la dieta y origen del VA y RA en la grasa de la leche de rumiantes. Adaptado de Tanaka (2005).

También es preciso señalar que, el tipo de forraje y su método de conservación pueden modificar el contenido de AG saludables en la grasa de la leche de oveja. De hecho, Reynolds *et al.* (2006) observaron una concentración mayor de *cis*-9, *trans*-11 CLA y menor de ALA en la leche de ovejas alimentadas con ensilado de maíz que en aquellas alimentadas con pellets de alfalfa. Cuando el ensilado de maíz se sustituía por heno de alfalfa, también se observó un efecto positivo en el perfil de AG, con un aumento tanto en el contenido de ALA como de *cis*-9, *trans*-11 CLA en la grasa de la leche de oveja.

Algunos autores (Gómez-Cortés *et al.*, 2009a) han observado que la alimentación con pasto fresco también puede llegar a incrementar los niveles de algunos isómeros minoritarios del CLA presentes en la grasa de la leche como el *trans*-11, *cis*-13 C18:2, *trans*-11, *trans*-13 C18:2 y el *trans*-12, *trans*-14 C18:2.

La relación forraje:concentrado de la dieta de las ovejas también afecta considerablemente a la producción y composición de la grasa de la leche. Dietas con una baja relación forraje:concentrado, especialmente con niveles de concentrado superior al 60% de MS, reducen el contenido en grasa de la leche y alteran el perfil de los ácidos grasos (Sanz Sampelayo *et al.*, 2007). La rápida degradación de los hidratos de carbono de reserva provoca una producción inadecuada de acetato y butirato, precursores de la síntesis de grasa en la glándula mamaria, y un nivel mayor de propionato en el rumen, que estimula la concentración de insulina circulante, lo que redirige metabolitos fuera del tejido mamario (Tripathi, 2014). En estas condiciones de alimentación, la biohidrogenación de ácidos grasos *trans* monoenoicos a ácido esteárico se reduce y aumenta la proporción de *trans*-10 C18:1 y otros MUFA *trans*. Este cambio en el metabolismo ruminal estaría asociado a una disminución en el pH (Fuentes *et al.*, 2009) y a cambios en la población microbiana en favor de otras especies implicadas en rutas de biohidrogenación alternativas.

2.3.2.2. Suplementación con grasas

La suplementación de la dieta de rumiantes lecheros con fuentes lipídicas se utiliza para aumentar la concentración energética de las dietas al comienzo de la lactación, debido a los elevados requerimientos nutricionales que exige la producción de leche y la limitada capacidad de ingestión que tienen los animales en este periodo. Esta estrategia constituye además el factor más importante para modular el contenido y perfil de AG de la leche (Bocquier y Caja, 2001).

El efecto que tienen las diferentes fuentes de grasa empleadas en las dietas de ovejas en lactación sobre la producción y composición de la grasa de la leche es bastante uniforme, causando en general un aumento en la producción y en el contenido en grasa (Chilliard *et al.*, 2003; Pulina *et al.*, 2006; Sanz Sampelayo *et al.*, 2007), exceptuando los aceites protegidos de origen marino que tienen un efecto negativo sobre la producción de grasa de la leche (Toral *et al.*, 2010a).

Normalmente, las fuentes de grasa se incorporan en las raciones de ovejas en lactación en un porcentaje no superior al 3-4% del total de MS. Esto es debido a que altas concentraciones de grasas añadidas a las dietas pueden reducir la actividad fermentativa de las bacterias y protozoos del rumen, reduciendo así la ventaja de la mayor densidad energética de la dieta (Palmquist *et al.*, 2005). La alteración de la actividad microbiana del rumen también podría conducir a la depresión en la síntesis de la grasa de la leche, la reducción de la síntesis de AG de cadena corta en la ubre y una disminución en la cantidad de metabolitos (principalmente AG de lipoproteínas) que la glándula mamaria toma de la sangre. Estos efectos negativos pueden ser reducidos mediante el uso de grasas protegidas o inertes.

Las grasas suplementadas pueden ser aportadas como semillas de oleaginosas (enteras o extrusionadas), aceites libres o protegidos, y jabones cálcicos. Cabe mencionar en este trabajo el empleo de la semilla de lino, la cual se utiliza de manera convencional en alimentación animal como una fuente de PUFA n-3, ya que contiene cantidades superiores a 500 g de ALA por kg de AG totales, así como una alta proporción de ácido linoleico (Moallem, 2009). En este sentido, diversos estudios (Gómez-Cortés *et al.*, 2009b; Bodas *et al.*, 2010) han observado el efecto positivo que la suplementación de

este ingrediente tiene sobre el perfil de AG de la leche de oveja, al incrementar el contenido de VA, RA y PUFA n-3, sin apreciar efectos negativos sobre la producción y composición de la leche.

Por otro lado, diversos estudios han observado que los aceites libres son más accesibles para los microorganismos del rumen, ocasionando cambios más notables en la composición de la grasa de la leche de rumiantes (Chilliard *et al.*, 2007; Bodas *et al.*, 2010). Estos cambios se deben a que el aceite que contienen las semillas enteras de oleaginosas que se incorporan en las raciones se encuentra disponible a nivel ruminal de forma más gradual que cuando se suministra en forma de forma libre. Este hecho permite una reducción más lenta pero más completa de los PUFA, originando un mayor acúmulo en el rumen y en la leche de C18:0 que es el producto de la biohidrogenación completa de los PUFA a nivel ruminal (Sanz Sampelayo *et al.*, 2007). Por otro lado, la incorporación de semillas procesadas parece ser más efectiva que las semillas enteras para generar aumentos en el contenido de VA y RA en la leche, probablemente porque los triglicéridos son más accesibles a los microorganismos del rumen, lo que significa que están más rápidamente disponibles para la lipólisis y biohidrogenación (Doreau *et al.*, 2009).

Se ha estimado que la concentración de CLA como valor medio en la leche de oveja varía entre el 1,2 y el 3% del total de ácidos grasos, dependiendo del tipo de alimentación (Parodi, 2003). En este sentido, cuando el objetivo es mejorar el contenido de CLA en la grasa de la leche, la suplementación con aceites vegetales ricos en C18:2 n-6 y C18:3 n-3 que proporcionan el sustrato para la producción de VA o RA en el rumen, ha demostrado gran eficacia en ovino (Hervás *et al.*, 2008; Shingfield y Wallace, 2014). Por otro lado, algunos estudios han indicado que la inclusión de aceites ricos en ácido linoleico (aceite de girasol o de soja) en las dietas de ovejas en lactación aumentan el contenido en RA de la leche más que las fuentes de grasa ricas en ALA (semilla de lino o aceite de colza) (Bodas *et al.*, 2010; Toral *et al.*, 2010a). A su vez, el ácido VA ejerce como precursor para la síntesis de CLA en la glándula mamaria, como se muestra en la Figura 2.4.

Por su parte, los jabones cálcicos se caracterizan por presentarse en forma sólida y aportar las grasas de forma protegida, evitando así los efectos perjudiciales de éstas a

nivel ruminal y facilitando su incorporación en las mezclas. En ganado ovino, los jabones cálcicos constituyen una de las formas más habituales de incorporar grasas en las raciones, siendo los jabones derivados del aceite de palma los más utilizados actualmente. Estos se caracterizan por su alto contenido en ácidos grasos saturados y antioxidantes (tocoferoles y carotenos) que garantizan una buena estabilidad a la oxidación e incrementan su valía como ingrediente en las raciones.

Desde hace unos años, existe un interés creciente por el empleo de grasas de origen marino (AM; aceites de pescado y algas marinas) en las raciones de rumiantes, debido a su contenido elevado en PUFA n-3 de cadena larga, principalmente ácido eicosapentanoico (EPA; C20:5 n-3) y docosahexanoico (DHA; C22:6 n-3), aunque su contenido puede variar con la temporada y la especie de origen (Annett *et al.*, 2009). La eficacia de la transferencia de estos AG de la dieta a la leche es baja, cuantificándose en ovejas entre un 3-10 y 6-18 % de EPA y DHA, respectivamente (Reynolds *et al.*, 2006; Capper *et al.*, 2007). La suplementación con AM resulta ser más eficaz que los aceites vegetales y las semillas de oleaginosas cuando se trata de elevar las concentraciones de RA en la grasa láctea (Shingfield *et al.*, 2013). Sin embargo, desde el punto de vista económico, el empleo de AM no resulta factible en las explotaciones debido a su elevado precio.

Por todo ello, la investigación sobre la inclusión de estos aceites en la dieta se ha dirigido más hacia su uso como moduladores de la fermentación en el rumen, con el objetivo de mejorar el contenido de CLA en productos procedentes de rumiantes como resultado de su potente efecto inhibitorio sobre la última etapa de la biohidrogenación, donde *trans* C18:1 se convierte en C18:0 (Lock y Bauman, 2004). Como resultado de esta inhibición, se acumula VA siendo a su vez un precursor de RA. Además, algunos autores han asociado la inclusión de AM con reducciones importantes en el contenido de la grasa de la leche. Así, Toral *et al.* (2010b) observaron recientemente que la suplementación con un 2,5% de aceite de girasol, más cantidades incrementales de AM (0,8, 1,6, y 2,4%) alcanzaban reducciones de un 30% en el contenido de grasa de la leche.

Este fenómeno, conocido como depresión de la grasa de la leche (MFD), es un efecto secundario importante de aquellas dietas con alto contenido en grasa, así como en dietas

con bajo contenido en fibra y que incluyen además altos niveles de concentrados (Shingfield *et al.*, 2010). En la actualidad, la teoría más aceptada señala al *trans*-10, *cis*-12 CLA, originado como resultado de los cambios en las rutas de biohidrogenación de los PUFA, como el inhibidor directo de la síntesis de grasa de la leche en la glándula mamaria (Pottier *et al.*, 2006). La prevención de estos cambios en las rutas de biohidrogenación permitiría el mantenimiento de la concentración de grasa de la leche y un elevado nivel de RA en la leche cuando los aceites vegetales o semillas oleaginosas son incluidos en la dieta.

La suplementación con fuentes lipídicas también tiene influencia sobre la proteína bruta de la leche, dando lugar a descensos en su contenido (Tripathi, 2014). Esto limita su aplicación en ganado lechero, donde muchas veces el precio de la leche se bonifica por su contenido en proteínas.

Este hecho se explica debido a la elevada concentración de ácidos grasos en sangre derivada de la suplementación grasa, lo que disminuye la liberación de somatotropina, que a su vez reduce la extracción mamaria de aminoácidos. Asimismo, reduce el flujo sanguíneo a través de la glándula mamaria, permitiendo una menor extracción de aminoácidos de la sangre.

Según Tripathi (2014), el contenido medio en proteína de la leche disminuía un 0,3% por cada kg de grasa suplementaria ingerido, o entre un 0,1 a 0,3% para la mayoría de los niveles típicos de suplementación. La fracción caseínica es la que sufre una mayor disminución (Bocquier y Caja, 2001). A pesar de la disminución observada, es preciso señalar que la producción total de proteína a lo largo de la lactación se mantiene o aumenta debido al consiguiente incremento de la producción de leche.

2.3.2.3. Suplementación con antioxidantes: Vitamina E

El aumento del contenido en ácidos grasos insaturados de los productos lácteos, los hace más susceptibles a la oxidación lipídica, lo que puede conducir a la degradación, a la reducción de su valor nutricional, y a la formación de sabores indeseables y compuestos potencialmente tóxicos. La presencia de oxígeno, iones metálicos, algunas enzimas y la exposición al calor o a la luz son algunos de los factores que pueden generar el daño oxidativo en los productos lácteos (Correddu *et al.*, 2015).

Para reducir esta degradación numerosos estudios han evaluado distintos compuestos antioxidantes que pueden ser adicionados a las dietas de rumiantes (vitamina E, vitamina C, carotenoides, selenio, zinc, β -flavonoides, vitamina A, etc.) siendo la vitamina E uno de los más utilizados (Castillo *et al.*, 2013).

De acuerdo con Politis (2012), la suplementación de la dieta de vacas lecheras con vitamina E afecta a la calidad de la leche de dos maneras. Por un lado, de forma indirecta, permite una reducción de los niveles de RCS y la actividad de la enzima proteolítica plasmina en la leche, y por otra parte de forma directa, al inducir la estabilidad oxidativa de la leche.

Aunque los resultados de los estudios sobre el efecto de la suplementación con vitamina E en el nivel de RCS en la leche de oveja son escasos, y algo contradictorios, en la mayoría de los casos parece que existe una relación positiva. La integración de vitamina E en la ración mejora la respuesta inmune de las células de la glándula mamaria, reduciendo por consiguiente la incidencia de infecciones que pueden conducir a aumentos en el RCS leche (Pulido *et al.*, 2012). Así, Baldi *et al.* (2000) en vacas lecheras observaron una reducción en el RCS entre un 20% y un 30% al incluir vitamina E en la ración, en comparación con los correspondientes valores de control. Así mismo, al incorporar vitamina E en dietas de ganado ovino se ha constatado una respuesta similar, obteniendo menores RCS en la leche (Pauselli *et al.*, 2001; Chiofalo *et al.*, 2004).

La plasmina es la principal enzima proteolítica de la leche (Albenzio *et al.*, 2009), que tiene la capacidad de hidrolizar la α -caseína y β -caseína. Esta proteólisis afecta negativamente a las propiedades de coagulación de la leche, dando lugar a una reducción del rendimiento quesero y de la calidad del producto. Algunos estudios (Politis *et al.*, 2004) en vacas lecheras han demostrado que la suplementación con vitamina E permite una reducción en los niveles de plasmina en la leche de un 30%.

La incorporación de vitamina E en las dietas de rumiantes mejora la estabilidad oxidativa de la leche que producen, debido al incremento proporcional de α -tocoferol en la leche asociado a esta suplementación (Castillo *et al.*, 2013; Al-Mabruk *et al.*, 2004). Sin embargo, Slots *et al.* (2007) observaron que la leche de vaca con una alta

concentración de α -tocoferol era más susceptible a la oxidación que la leche con una baja concentración de α -tocoferol.

Estudios realizados en ganado vacuno (Weiss, 2002) han indicado que generalmente menos del 2% de la vitamina E consumida por una vaca se transfiere a la leche y que la eficiencia de transferencia disminuye a medida que aumenta la ingesta de vitamina E. La transferencia de la vitamina E del alimento a la leche de la vaca depende del tipo de vitamina E suplementada (Meglia *et al.*, 2006; Weiss *et al.*, 2009).

En ganado ovino, los trabajos realizados muestran resultados similares a los comentados anteriormente. El aporte de vitamina E en cantidades supranutricionales da lugar a un incremento en la concentración de vitamina E de la leche (Njeru *et al.*, 1994; Capper *et al.* 2005; Gallardo *et al.*, 2015). Sin embargo, Capper *et al.* (2005) observaron una disminución en el contenido en vitamina E de la grasa de la leche cuando se suplementó la dieta de las ovejas con vitamina E y aceite de pescado. Esto podría deberse a que las necesidades de vitamina E de las ovejas como antioxidante celular aumentaron al aumentar el contenido en PUFA de la leche y por lo tanto se observó una menor concentración de vitamina E en la leche.

El tipo de vitamina E aportada en la ración (sintética o natural) parece tener una gran influencia sobre las concentraciones de la misma en la leche. Gallardo *et al.* (2015) observaron en ganado ovino que la concentración de vitamina E en la leche era 2,73 veces mayor en ovejas alimentadas con vitamina E natural (acetato de RRR- α -tocoferol) que en las que recibieron vitamina E sintética (acetato de *all-rac*- α -tocoferol). Resultados similares se han observado en ganado vacuno, con unas concentraciones de vitamina E en la leche 1,24 (Meglia *et al.*, 2006) y 1,43 (Weiss *et al.*, 2009) veces superior en aquellos animales que recibieron vitamina E natural respecto a los que recibieron vitamina E sintética.

La suplementación con vitamina E también ha sido asociada con una posible reducción del MFD derivado de la suplementación con grasas altamente insaturadas. Algunos autores como Kay *et al.* (2005) observaron en vacuno con dietas ricas en concentrado que la adición de 10.000 UI de α -tocoferol/día a la ración lograba incrementar el contenido de grasa de la leche en un 6%. De acuerdo con Pottier *et al.*, (2006), estas

observaciones se explicarían debido a que la vitamina E provoca reducciones en los niveles de *trans*-10 C18:1 y *trans*-10, *cis*-12 C18:2, asociados al síndrome de baja grasa en la leche.

3. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL

La obtención de leche de oveja con un perfil de ácidos grasos más saludable para la alimentación humana y que presente un mayor contenido de antioxidantes, puede ser una estrategia que permita dotar a este producto de un valor añadido desde el punto de vista económico y tecnológico.

El objetivo general de este trabajo ha sido estudiar el efecto que la incorporación de distintos tipos de vitamina E, natural o sintética, en dietas enriquecidas en ácido α -linolénico en la fase intermedia de lactación de ganado ovino tiene sobre la producción y composición de la leche.

Para lograr este objetivo general se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1. Estudiar el efecto de la suplementación de la dieta de ovejas de raza Churra con vitamina E sobre los rendimientos productivos en la fase intermedia de lactación.
2. Analizar el efecto de la inclusión de vitamina E (natural o sintética) en la dieta de ovejas en la fase intermedia de lactación sobre el perfil de ácidos grasos de la leche producida.
3. Valorar el efecto que el tipo de vitamina E, sintética o natural, incluida en la dieta de ovejas en la fase intermedia de lactación tiene sobre el contenido en vitamina E de la leche producida.
4. Elaborar recomendaciones que permitan optimizar los sistemas de alimentación del ganado ovino lechero durante la fase intermedia de la lactación, para obtener leche de una mayor calidad desde un punto de vista tecnológico y nutricional y, así, mejorar los rendimientos económicos de las explotaciones.

Para lograr los objetivos establecidos, se realizó una prueba experimental con 36 ovejas de raza Churra en la quinta semana de lactación que se asignaron de forma equilibrada a tres tratamientos experimentales (12 ovejas por tratamiento) de acuerdo con la incorporación y el tipo de vitamina E empleada: Control (ración sin vitamina E), Sin-E (ración con 400 mg/kg vitamina E sintética) y Nat-E (ración con 400 mg/kg vitamina E natural).

Durante todo el tratamiento experimental (3 semanas de adaptación a las raciones experimentales y 3 semanas de control), los 12 animales se alojaron en estabulación permanente. La ingestión del alimento de cada oveja fue registrada diariamente, mientras que el contenido en materia seca de los alimentos ofrecidos y rechazados de determinó semanalmente.

Los controles lecheros se llevaron a cabo durante las 3 semanas de control, realizándose 3 controles de leche con un intervalo de 7 días cada uno. Durante la prueba experimental se determinó la producción, la composición físico-química (sólidos totales, grasa, proteína y lactosa), el perfil de ácidos grasos y el contenido en vitamina E de la leche. En la Figura 3.1. se muestra el planteamiento experimental de forma esquematizada.

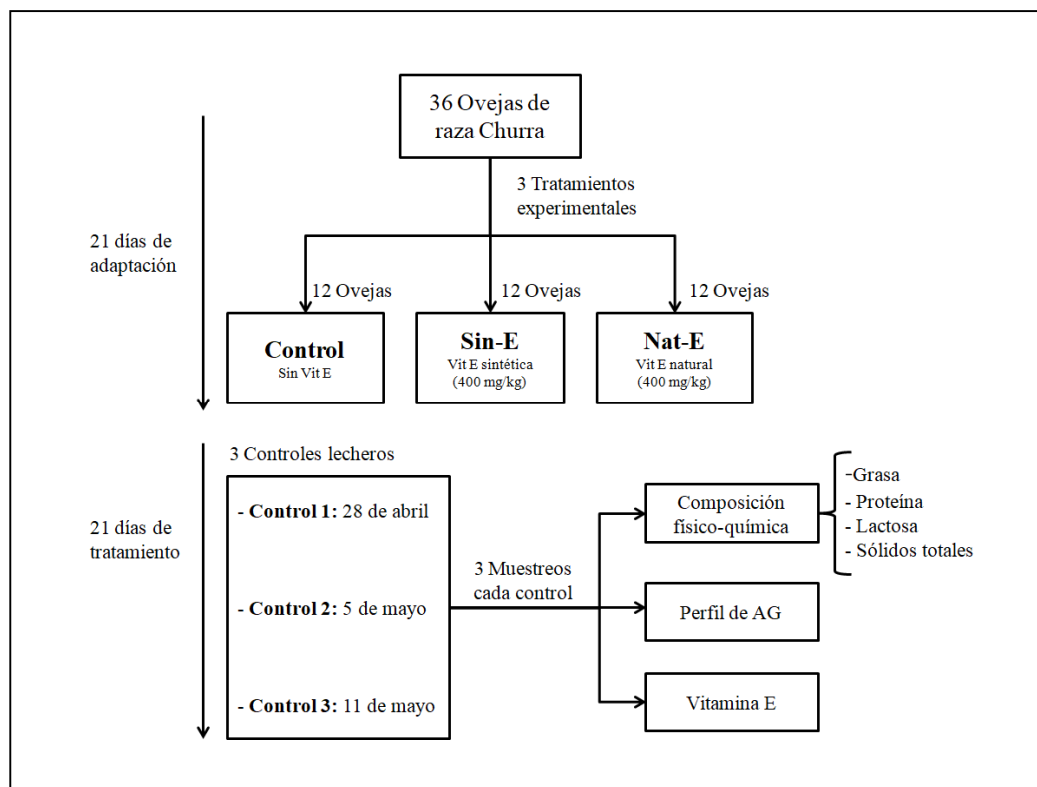


Figura 3.1. Esquema del planteamiento experimental.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Animales y alimentación

Para la realización de este trabajo se emplearon 36 ovejas adultas de raza Churra pertenecientes a una explotación colaboradora con el Grupo de Investigación de Producción y Alimentación de Rumiantes de la Universidad de Valladolid situada en Palencia. En la quinta semana de lactación, y una vez destetados los corderos, las ovejas se asignaron de forma equilibrada a tres tratamientos experimentales (12 ovejas por tratamiento) de acuerdo con la incorporación y el tipo de vitamina E empleada: Control (ración sin vitamina E), Sin-E (ración con 400 mg/kg vitamina E sintética) y Nat-E (ración con 400 mg/kg vitamina E natural).

Las ovejas permanecieron en estabulación permanente durante todo el período experimental (tres semanas de adaptación a las dietas experimentales y 3 semanas de control) y se ordeñaron dos veces al día en una sala de ordeño tipo Casse 2 x 24 con 12 unidades de ordeño (Alfa-Laval Iberia S.A., Madrid, España), de línea baja, a 180 pulsaciones/minuto, con una relación de pulsación 50:50 y a 36 kPa de vacío.

Las ovejas se pesaron y se determinó su condición corporal al inicio de la prueba experimental. Los registros de peso se efectuaron siempre con los animales en ayunas en una báscula electrónica con capacidad máxima de $500 \pm 0,1$ kg (Trush-Test modelo AG-500-02, Australia). La condición corporal se determinó de acuerdo con el método descrito por Russel *et al.* (1969), basado en una escala de 0 a 5 puntos, con una precisión de 0,25 puntos.

Durante todo el período experimental cada oveja de manera individual recibió 2,3 kg de materia fresca (MF) al día de una ración total mezclada (TMR) a la que se incorporó semilla extrusionada de lino como fuente de ácido α -linolénico. En la Tabla 4.1 se muestran los ingredientes y la composición química de la ración correspondiente al tratamiento experimental Control y a la que se le incorporó diariamente una fuente de vitamina E (400 mg/kg MS), natural o sintética, de acuerdo con el diseño experimental.

La ración diaria de cada animal se suministró repartida en dos comidas al día (8:00 horas y 17:00 horas), después de cada ordeño. La ingestión de alimento se controló

diariamente a partir de la cantidad de alimento ofrecida y rehusada por las ovejas. Se tomaron muestras diarias de las raciones experimentales ofrecidas y de los restos y se determinó su composición química. Durante todo el periodo experimental las ovejas dispusieron de agua limpia a voluntad.

Tabla 4.1. Ingredientes y composición química de la ración control

Ingredientes (%MF)	TMR
Alfalfa deshidratada	37,30
Harina de soja	13,17
Maíz grano	11,02
Avena	9,33
^a Tradilin [®]	8,70
Cebada	7,63
Pulpa remolacha	7,63
Melaza de caña	4,37
Complejo vitamínico-mineral	0,85
Composición química (%MS)	
Materia seca (MS)	88,93
Proteína bruta (PB)	18,88
Cenizas	7,86
Fibra neutro detergente (FND)	25,45
Fibra ácido detergente (FAD)	16,61
Extracto etéreo (EE)	5,10
UFL/kg MS	0,87

^aSemilla de lino (Tradilin[®], Valorex SAS, La Messayais, Combourtille, France) contiene un 70% de semilla extrusionada de lino y un 30 % de salvado de trigo. Perfil de ácidos grasos (% de ácidos grasos identificados): C12:0 (0.05), C14:0 (0.10), C16:0 (6.40), C18:0 (4.00), C18:1 (15.10), C18:2 (18.20) y C18:3 (54.30).

4.2. Producción y composición de la leche

Después de un período de adaptación a las raciones experimentales de tres semanas, se llevaron a cabo 3 controles lecheros con un intervalo entre controles de 7 días.

En cada control lechero se midió la cantidad de leche producida por cada oveja en el ordeño de la tarde. Así mismo, se controló la hora de ordeño de la mañana y de la tarde. Los litros de leche producida por oveja/día se estimaron por extrapolación a 24 horas a partir de la leche producida en el ordeño de la tarde y el tiempo transcurrido entre los dos ordeños.

Además, en cada control lechero se tomaron tres muestras de leche de cada oveja, una para determinación de la composición físico-química de la leche y las otras para la determinación del perfil de ácidos grasos y el contenido en α -tocoferol de la misma.

4.3. Determinaciones analíticas

4.3.1. Alimentos

Sobre las muestras homogéneas y representativas de la ración ofrecida a las ovejas se llevó a cabo la determinación del contenido en: materia seca (MS), cenizas, proteína bruta (PB; N x 6,25), extracto etéreo (EE), fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD).

Todas las determinaciones se realizaron por duplicado sobre muestras molidas en molino de martillos (Restch SM[®] 1000, Alemania) utilizando una malla de 1 mm de diámetro de paso.

La determinación de materia seca se realizó por desecación en estufa con sistema de aire forzado (Menmert, Modell 800) a 105°C durante 24 horas hasta obtener un peso constante, siguiendo el Método ID 934.01 recomendado por la AOAC (2003).

El contenido en cenizas se determinó siguiendo el Método ID 942.05 recomendado por la AOAC (2003). Para ello, la muestra seca fue calcinada en un horno mufla (Hobersal, mod. 10 PR/300, serie 8B) a 550 °C durante 8 horas.

El contenido en PB se determinó de acuerdo con Método ID 976.06 recomendado por la AOAC (2003). Para ello mediante el método de Kjeldhal se determinó el contenido de nitrógeno y multiplicándolo por un factor de conversión de 6,25 el contenido en proteína bruta.

Para determinar el contenido en extracto etéreo se empleó el método Soxhlet, utilizando éter de petróleo como disolvente y un extractor Soxhlet (ISO-1443-1973), tras una hidrólisis previa con HCl 3N en ebullición suave durante una hora.

El contenido en fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD) de los alimentos se determinó según el procedimiento descrito por Van Soest *et al.* (1991), empleando un analizador de fibra Ankom[®] 220 (Ankom Technology, Estados Unidos).

4.3.2. Leche

El contenido de proteína, grasa y lactosa de la leche se determinó mediante un equipo MilkoScan-400 Analyser (Foss A/S, Hillerød, Dinamarca), el mismo día del control lechero.

El perfil de ácidos grasos de la leche se determinó mediante cromatografía de gases, a partir de muestras alícuotas de las tres semanas de duración del período experimental. La grasa de la leche se extrajo por centrifugación de acuerdo con el método descrito por Luna *et al.* (2005). Para ello, se tomaron 50 ml de leche cruda y se centrifugaron a 11.000 rpm durante 30 minutos a 20 °C en una centrífuga Eppendorf 5804R (Eppendorf, Hamburg, Alemania). La capa de grasa sobrenadante se transfirió a un microtubo eppendorf y se centrifugó a 14.000 rpm durante 30 minutos a temperatura ambiente. La capa superior de grasa fue transferida a viales de color ámbar, que fueron gaseados con N₂ y conservados a -80°C hasta su posterior análisis.

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAME) fueron obtenidos por metilación base-catalizada de los glicéridos (KOH₂N en metanol) de acuerdo con el método estándar FIL-IDF (1999).

Posteriormente, para la identificación y cuantificación de los FAME se utilizó un cromatógrafo de gases (Agilent 6890 N Network System, Palo Alto, CA), provisto de una columna capilar CP-Select (100 m x 0,32 mm y 0,25 μ m de espesor; Varian Inc., Palo Alto, CA). Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes:

- Split ratio: 1:40.
- Gas portador: helio (37 psi).
- Temperatura del inyector: 255°C.
- Gradiente de temperaturas: 75 °C durante 1 min, rampa 8°C/min hasta 165° C durante 35 minutos, aumentar 5,5°C/min hasta 210°C durante 1 min. Finalmente rampa 15 °C/min hasta 240°C y mantener durante 15 min.
- Temperatura del detector FID: 255 °C.

La identificación de FAME se realizó comparando los tiempos de retención de FAME con patrones estándares comerciales compuestos ésteres metílicos de ácidos grasos puros mezclados en cantidad conocida (FAME Mix; Supelco, Bellefonte, PA, Estados

Unidos). El contenido de ácidos grasos en la leche se expresó como % del total de FAME identificados.

A partir de los análisis de ácidos grasos se determinó el contenido en ácidos grasos saturados (SAT), monoinsaturados (MUFA), poliinsaturados (PUFA), la relación entre ácidos grasos n-6 y n-3 (n6/n3), el contenido en ácidos grasos de cadena corta, cadena media, cadena larga y cadena ramificada.

Los índices de desaturasa fueron calculados como: índice desaturasa 14:1 = $C14:1/(C14:0 + C14:1)$; índice desaturasa 16:1 = $C16:1/(C16:0 + C16:1)$; índice desaturasa 18:1 = $C18:1/(C18:0 + C18:1)$; índice desaturasa CLA = $cis-9, trans-11 C18:2/(cis-9, trans-11 C18:2 + trans-11 C18:1)$.

Además, y de acuerdo con Ulbricht y Southgate (1991), se calculó el índice de aterogenicidad (IA) = $(C12:0 + 4 \times C14:0 + C16:0)/(MUFA + PUFA)$, el índice de trombogenicidad (IT) = $(C14:0 + C16:0 + C18:0)/(0,5MUFA + 0,5PUFA_{n-6} + 3PUFA_{n-3} + (PUFA_{n-3}/PUFA_{n-6}))$ y la relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos (h/H) = $(C18:1 + PUFA)/(C14:0 + C16:0)$.

La determinación del contenido en vitamina E de la leche de oveja se determinó por duplicado. Para ello se extrajo la vitamina E de la leche de acuerdo con el procedimiento descrito por Czauderna y Kowalczyk (2007). Para ello, la leche fue saponificada mediante KOH en metanol a 80°C durante 20 minutos y las vitaminas fueron extraídas con n-hexano. Posteriormente, la vitamina E fue analizada mediante HPLC (Rodas Mendoza *et al.*, 2003) utilizando un módulo de separación (Walters 2690; Waters Corporation, Milford, MA), equipado con una columna C18, 250 x 3.00 mm i.d. (OmniSpher 5; Varian Inc., Palo Alto, CA, USA).

4.4. Análisis estadísticos

El análisis de los datos relativos a la producción y composición de la leche se realizó mediante un análisis de medidas repetidas utilizando el procedimiento PROC MIXED del paquete estadístico SAS 9.2. (SAS Inst. Inc., Cary, NC, Estados Unidos).

Por su parte, los ácidos grasos de la leche y el contenido en vitamina E de la misma fueron analizados mediante análisis de varianza con el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVII (Statgraphics, Madrid, España). Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando $P < 0,05$ y como tendencia cuando $P < 0,10$.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Peso medio y condición corporal

Los valores medios relativos al peso y condición corporal de las ovejas de los distintos tratamientos al inicio del experimento, se muestran en la Tabla 5.1.

Tabla 5.1. Peso vivo (kg) y condición corporal (CC) de las ovejas de cada uno de los grupos experimentales.

	Tratamiento			Error estándar	Nivel de significación
	Control \pm DE	Sin-E \pm DE	Nat-E \pm DE		
Peso medio	65,00 \pm 11,49	66,38 \pm 8,95	67,85 \pm 8,45	2,825	ns
CC media (1-5)	2,42 \pm 0,34	2,39 \pm 0,28	2,48 \pm 0,28	0,088	ns

DE: Desviación estándar

Nivel de significación: No significativo (ns), $P > 0,05$; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$

De acuerdo con el planteamiento experimental, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) ni en el peso medio ni en la condición corporal de las ovejas de los distintos tratamientos experimentales.

5.2. Producción y composición de la leche

La Tabla 5.2. muestra los valores medios de la producción y composición de la leche de las ovejas (expresados en g/día y en porcentaje) para cada tratamiento experimental.

Tabla 5.2. Producción y composición media de la leche de las ovejas pertenecientes a los tres tratamientos experimentales.

	Tratamiento ¹			Semana 1	Semana 2	Semana 3	Error estándar	Nivel de significación ²	
	Control	Sin-E	Nat-E					D	T
Producción de leche (kg/día)	1,34	1,38	1,50	1,49	1,33	1,39	0,142	ns	ns
Producción (g/día)									
Grasa	105,89	107,32	114,23	120,53	99,69	106,74	10,830	ns	ns
Proteína	65,08	68,22	70,86	69,54	66,93	67,64	6,437	ns	ns
Lactosa	64,43	67,01	71,22	71,42	64,91	66,22	7,135	ns	ns
Sólidos totales	247,49	255,05	269,81	274,95	243,54	253,12	24,979	ns	ns
Composición (%)									
Grasa	7,93	7,87	7,81	8,14	7,69	7,77	0,268	ns	ns
Proteína	4,88	5,05	4,89	4,73	5,16	4,94	0,154	ns	*
Lactosa	4,75	4,83	4,68	4,75	4,79	4,73	0,059	*	ns
Sólidos totales	18,47	18,66	18,28	18,52	18,54	18,34	0,298	ns	ns

¹Tratamientos experimentales: ración sin vitamina E (Control), ración con 400 mg/kg vitamina E sintética (Sin-E), ración con 400 mg/kg vitamina E natural (Nat-E).

²Efecto de la dieta experimental (D), efecto de la semana de muestreo (T). No se observó una interacción significativa entre ambos factores (D x T).

Nivel de significación: No significativo (ns), $P > 0,05$; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$

La incorporación de vitamina E en la dieta de ovejas en la fase intermedia de lactación no tuvo un efecto estadísticamente significativo ($P > 0,05$) sobre la producción de leche ni sobre la producción de grasa, proteína, lactosa y sólidos totales de la leche. En cambio, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) debidas a la dieta experimental (D) sobre el porcentaje de lactosa y al efecto de la semana de muestreo (T) sobre el porcentaje de proteína de la leche. No se observó una interacción estadísticamente significativa ($P < 0,05$) entre ambos factores (D x T) en la producción y composición de la leche.

El hecho de que la inclusión de vitamina E en la dieta de las ovejas no afectara significativamente ($P > 0,05$) a la producción de leche (kg/día), está en concordancia con lo observado por otros autores (Gallardo *et al.*, 2015) cuando la dieta de las ovejas fue suplementada al inicio de lactación con vitamina E.

La incorporación de grasa en forma de semillas ricas en ácidos grasos insaturados puede provocar un descenso en la producción de grasa láctea. De acuerdo con Pottier *et al.* (2006) la suplementación con vitamina E podría ayudar a mitigar la menor producción y contenido en grasa de la leche que se produce al suplementar con aceites vegetales la dieta de vacas, así como a mantener aumentos en la leche de los isómeros *trans*-10 C18:1 y *trans*-10, *cis*-12 C18:2 característicos de la suplementación con aceites vegetales con alto grado de insaturación.

Sin embargo, y teniendo en cuenta las consideraciones anteriores, en nuestro trabajo no se observaron variaciones estadísticamente significativas ($P > 0,05$) en el contenido en grasa y proteína de la leche debidas a la incorporación y tipo de vitamina E empleada en la ración, lo que difiere con los datos obtenidos por Gallardo *et al.* (2015) que observaron que la suplementación de la dieta con vitamina E, tanto sintética como natural, disminuía el contenido en proteína e incrementaba significativamente ($P < 0,05$) el contenido en grasa de la leche. En estudios realizados en ganado vacuno (Kay *et al.*, 2005; Pottier *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2008) también se han observado incrementos significativos en el contenido en grasa de la leche al incorporar vitamina E en dietas enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados.

La falta de efecto de la vitamina E sobre el contenido de grasa en este experimento puede deberse a dos motivos. Por un lado, las diferencias que existen entre especies, ya que, de acuerdo con algunos estudios, las ovejas tienen una menor tendencia a padecer el síndrome de baja grasa en la leche que las vacas, incluso cuando las dietas son ricas en concentrado y contienen cantidades relativamente elevadas de aceites vegetales (Pulina *et al.*, 2006; Shingfield *et al.*, 2010). Por otra parte, siendo más probable, el incremento de la producción láctea en las dietas suplementadas con vitamina E, aunque no fue estadísticamente significativo, parece explicar el hecho de que no existan incrementos en la grasa láctea, al producir un efecto de dilución de ésta en la leche.

5.3. Perfil de ácidos grasos de la leche

5.3.1. Contenido en ácidos grasos saturados

El porcentaje de ácidos grasos saturados de la grasa de la leche de las ovejas de los distintos tratamientos experimentales se presenta en la Tabla 5.3. De acuerdo con la Tabla 5.3, los ácidos grasos saturados mayoritarios en la grasa láctea fueron el C10:0, C12:0, C14:0, C16:0 y C18:0 tal y como ocurre de forma característica en la leche de oveja.

Tabla 5.3. Porcentaje de ácidos grasos saturados obtenidos en la leche correspondiente a los distintos grupos experimentales (g/100g de ácidos grasos totales).

	Tratamiento ¹			DER	Nivel de significación	Contraste ²			
	Control	Sin-E	Nat-E			1	2	3	4
C4:0	2,87	3,02	3,08	0,242	ns	ns	ns	ns	ns
C6:0	1,77	1,86	1,79	0,315	ns	ns	ns	ns	ns
C8:0	1,62	1,70	1,56	0,410	ns	ns	ns	ns	ns
C10:0	5,08	5,27	4,78	1,439	ns	ns	ns	ns	ns
C11:0	0,06	0,04	0,04	0,031	ns	ns	ns	ns	ns
C12:0	3,33	3,24	3,06	0,696	ns	ns	ns	ns	ns
<i>iso</i> -C13:0	0,02	0,01	0,02	0,006	ns	ns	ns	ns	ns
<i>anteiso</i> -C13:0	0,01	0,03	0,03	0,007	**	**	*	ns	**
C13:0	0,06	0,04	0,05	0,024	ns	ns	ns	ns	ns
<i>iso</i> -C14:0	0,06	0,06	0,05	0,012	ns	ns	ns	ns	ns
C14:0	8,71	9,00	8,87	1,055	ns	ns	ns	ns	ns
<i>iso</i> -C15:0	0,14	0,17	0,16	0,032	ns	ns	ns	ns	ns
<i>anteiso</i> -C15:0	0,32	0,30	0,29	0,038	ns	ns	ns	ns	ns
C15:0	0,77	0,70	0,70	0,105	ns	ns	ns	ns	ns
<i>iso</i> -C16:0	0,35	0,23	0,18	0,154	ns	ns	ns	ns	ns
C16:0	20,03	22,09	21,20	1,920	ns	ns	ns	ns	ns
<i>iso</i> -C17:0	0,37	0,39	0,37	0,044	ns	ns	ns	ns	ns
<i>anteiso</i> -C17:0	0,40	0,41	0,35	0,042	ns	ns	ns	ns	ns
C17:0	0,58	0,57	0,52	0,078	ns	ns	ns	ns	ns
C18:0	12,30	13,94	14,76	2,467	ns	ns	ns	ns	ns
C22:0	0,12	0,14	0,12	0,016	ns	ns	ns	ns	ns
C24:0	0,05	0,05	0,04	0,007	ns	ns	ns	ns	ns

DER: desviación estándar residual

¹Tratamientos experimentales: ración sin vitamina E (Control), ración con 400 mg/kg vitamina E sintética (Sin-E), ración con 400 mg/kg vitamina E natural (Nat-E).

²Contrastes: (1) Control vs Sin-E, (2) Control vs Nat-E, (3) Sin-E vs Nat-E, (4) Control vs Sin-E + Nat-E. Nivel de significación: No significativo (ns), $P > 0,1$; t, $P < 0,1$; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$

Como se puede observar, la incorporación de vitamina E natural o vitamina E sintética a la dieta de las ovejas en la fase intermedia de lactación apenas tuvo influencia en el contenido de ácidos grasos saturados de la leche. Únicamente, el ácido graso *anteiso*-C13:0 mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,01$), viéndose incrementado por la incorporación de vitamina E, natural o sintética. Sin embargo, los

niveles de dicho ácido grasos fueron inferiores al 0,01% por lo que resulta difícil encontrar una explicación a las diferencias encontradas, así como poder atribuir algún efecto nutritivo a las diferencias encontradas en el porcentaje de este ácido graso.

5.3.2. Contenido en ácidos grasos monoinsaturados

El porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados de la grasa de la leche de las ovejas pertenecientes a los distintos tratamientos experimentales se presenta en la Tabla 5.4.

En la Figura 5.1. se muestran los niveles de C18:1 *trans*-10 y C18:1-*trans* 11 (VA) presentes en la grasa de la leche de las ovejas de los distintos tratamientos experimentales.

Como se puede observar, la incorporación de vitamina E, natural o sintética, en la dieta de las ovejas en la fase intermedia de lactación no dió lugar a diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) en el contenido de ácidos grasos monoinsaturados de la grasa de la leche.

De acuerdo con los resultados obtenidos en trabajos previos (Manso *et al.*, 2016), el ácido oleico (C18:1 *cis* 9) es el ácido graso mayoritario en la grasa de la leche de oveja. Por otra parte, tal y como se puede comprobar en la Tabla 5.4 y en la Figura 5.1., el ácido vaccénico (VA) y el C18:1 *trans*-10 son los isómeros C18:1 *trans* más abundantes motivado en parte por que dichos ácidos grasos son los productos de la biohidrogenación ruminal del ácido linoleico y linolénico, y cuyo contenido en la semilla extrusionada de lino, presente en todas las raciones experimentales, es elevado.

Es muy destacable los niveles elevados de C18:1 *trans*-10, asociado con efectos negativos para la salud humana, que se observan en el tratamiento Control (Figura 5.1.), debido probablemente a que dicho ácido graso es un metabolito de la biohidrogenación parcial incompleta y alterada de los ácidos linoleico y linolénico en el rumen, que suele existir cuando se emplean aceites poliinsaturados y raciones muy concentradas. En general, las raciones suplementadas con PUFA, bajas en fibra, con un exceso de almidón rápidamente fermentable o con pequeño tamaño de partícula, reducen el pH ruminal y afectan negativamente a las bacterias celulolíticas, principales responsables de la eficacia de la biohidrogenación y/o producen vías alternativas de biohidrogenación originando aumentos de ácidos grasos *trans* como es el caso del C18:1 *trans*-10 al síndrome de baja

grasa en la leche que ha sido ampliamente descrito en el ganado vacuno (Manso y Gallardo, 2012).

Tabla 5.4. Porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados de la grasa de la leche correspondiente a los distintos grupos experimentales (g/100g de ácidos grasos totales).

	Tratamiento ¹			DER	Nivel de significación	Contraste ²			
	Control	Sin-E	Nat-E			1	2	3	4
C10:1	0,10	0,12	0,12	0,042	ns	ns	ns	ns	ns
C14:1 <i>cis</i> -9	0,10	0,09	0,12	0,022	ns	ns	ns	ns	ns
C16:1 n-7	0,46	0,47	0,59	0,089	ns	ns	ns	ns	ns
C16:1 n-9	0,31	0,26	0,26	0,048	ns	ns	ns	ns	ns
C18:1 <i>trans</i> -6-8	0,93	0,75	1,00	0,352	ns	ns	ns	ns	ns
C18:1 <i>trans</i> -9	0,29	0,46	0,36	0,251	ns	ns	ns	ns	ns
C18:1 <i>trans</i> -10	4,94	1,95	3,50	2,864	ns	ns	ns	ns	ns
C18:1 <i>trans</i> -11 (VA)	3,14	4,55	3,76	1,431	ns	ns	ns	ns	ns
C18:1 <i>cis</i> -9	18,23	18,37	17,82	3,422	ns	ns	ns	ns	ns
C18:1 <i>cis</i> -10	1,38	0,42	0,73	0,894	ns	ns	ns	ns	ns
C18:1 <i>cis</i> -11	1,28	0,91	1,20	0,340	ns	ns	ns	ns	ns
C18:1 <i>cis</i> -12	0,82	0,69	0,75	0,151	ns	ns	ns	ns	ns
C18:1 <i>cis</i> -13	0,23	0,10	0,27	0,123	ns	ns	ns	ns	ns
C18:1 <i>cis</i> -15	0,14	0,13	0,13	0,039	ns	ns	ns	ns	ns
C22:1 n-9	0,09	0,08	0,09	0,017	ns	ns	ns	ns	ns
C24:1 <i>cis</i> -15	0,01	0,02	0,01	0,005	ns	ns	ns	ns	ns

DER: desviación estándar residual.

¹Tratamientos experimentales: ración sin vitamina E (Control), ración con 400 mg/kg vitamina E sintética (Sin-E), ración con 400 mg/kg vitamina E natural (Nat-E).

²Contrastes: (1) Control vs Sin-E, (2) Control vs Nat-E, (3) Sin-E vs Nat-E, (4) Control vs Sin-E + Nat-E.

Nivel de significación: No significativo (ns), $P > 0,1$; t, $P < 0,1$; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$

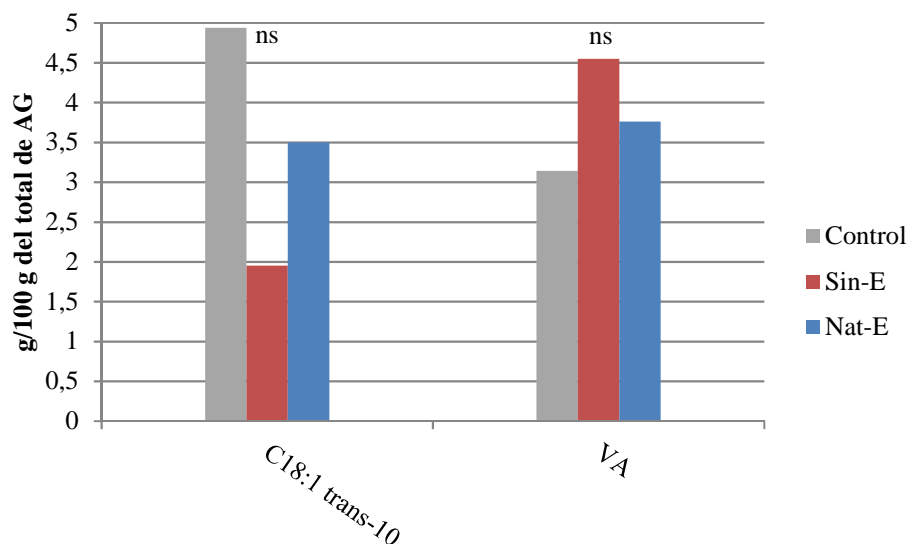


Figura 5.1. Porcentaje de C18:1 *trans*-10 y C18:1 *trans*-11 (VA) en la grasa de la leche.

Distintos trabajos llevados a cabo en ganado vacuno han señalado que la suplementación de la ración con vitamina E podría modificar las rutas de biohidrogenación ruminal de los ácidos grasos insaturados (Bell *et al.*, 2006), minimizando la formación de isómeros *trans*-10 en el rumen, y manteniendo elevada la producción de VA, beneficioso para la salud humana, cuando se incluyen en la dieta aceites vegetales o semillas.

Tal y como se puede observar en este trabajo (Tabla 5.4. y Figura 5.1.) al incluir vitamina E natural o sintética en la ración enriquecida en ácido α -linolénico, el contenido de C18:1 *trans*-10 se ha visto reducido en la grasa de la leche, aunque no de forma significativa ($P > 0.05$). El hecho de que los efectos de la vitamina E sintética y natural hayan sido limitados, parecen indicar que la vitamina E no supone un factor limitante en la biohidrogenación del rumen ni tampoco funciona como un modulador de las rutas de biohidrogenación (Zened *et al.*, 2012).

Por su parte, el incremento numérico observado en el contenido de VA cuando se incorporan altos niveles de vitamina E en las raciones, concuerda con los resultados obtenidos en otros trabajos en vacas y ovejas (Pottier *et al.*, 2006; Gallardo *et al.*, 2015) en los que se incorporaba vitamina E. Este incremento podría ser atribuido a que la vitamina E favorece el funcionamiento de las bacterias productoras de C18:1 *trans*-11 en el rumen.

Es preciso señalar que el mecanismo de acción de la vitamina E no ha sido descrito con claridad. Algunas hipótesis sugieren que la vitamina E actúa como inhibidor en el desarrollo de las bacterias productoras de C18:1 *trans*-10, mientras que otras sostienen que funciona como un donador de electrones en la biohidrogenación de RA a VA. En este sentido, parece que el α -tocoferol podría actuar reestableciendo las concentraciones de α -tocoferolquinol y deoxi- α -tocoferolquinol, unas moléculas estructuralmente similares presentes en la bacteria del rumen *Butyrivibrio fibrisolvens* (Pottier *et al.*, 2006).

5.3.3. Contenido en ácidos grasos poliinsaturados

El perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la grasa de la leche de las ovejas de los distintos tratamientos experimentales se presenta en la Tabla 5.5. Tal y como se puede observar, la incorporación de vitamina E, natural o sintética, a la dieta de las ovejas en la fase intermedia de lactación no provocó grandes cambios en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados de la grasa de la leche. Solamente, la suplementación de la ración con vitamina E, natural o sintética, redujo significativamente ($P < 0,05$) el contenido de C18:2 n-6, ALA y C20:3 n-6. No encontramos diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) entre las dos fuentes de vitamina E empleadas (Sin-E vs. Nat-E).

Tabla 5.5. Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la grasa de la leche correspondiente a los distintos grupos experimentales (g/100g de ácidos grasos totales).

	Tratamiento ¹			DER	Nivel de significación	Contraste ²			
	Control	Sin-E	Nat-E			1	2	3	4
C18:2 Conjugados									
CLA <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 (RA)	1,12	1,48	1,10	0,526	ns	ns	ns	ns	ns
CLA <i>trans</i> -9, C7 + C20	0,28	0,30	0,29	0,023	ns	ns	ns	ns	ns
CLA <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	0,04	0,08	0,04	0,048	ns	ns	ns	ns	ns
CLA <i>cis</i> -11, <i>cis</i> -13	0,16	0,15	0,13	0,034	ns	ns	ns	ns	ns
CLA <i>trans</i> -11, <i>trans</i> -13	0,10	0,08	0,10	0,034	ns	ns	ns	ns	ns
C18:2 No conjugados									
C18:2 n-6	4,55	3,41	3,74	0,667	t	*	ns	ns	*
C18:2 <i>trans</i> -9, <i>trans</i> -12	0,23	0,16	0,21	0,081	ns	ns	ns	ns	ns
Otros PUFA									
C18:3 n-3 (ALA)	1,18	0,88	0,90	0,192	t	t	t	ns	*
C18:3 n-9	0,04	0,03	0,03	0,013	ns	ns	ns	ns	ns
C18:4 n-3	0,05	0,03	0,03	0,020	ns	ns	ns	ns	ns
<i>trans</i> -9, <i>trans</i> -11 + C20:1n-9	0,17	0,14	0,14	0,037	ns	ns	ns	ns	ns
C20:2 n-6	0,03	0,02	0,02	0,010	ns	ns	t	ns	t
C20:3 n-6	0,03	0,03	0,03	0,004	t	t	*	ns	*
C20:3 n-9	0,08	0,09	0,08	0,008	ns	ns	ns	ns	ns
C20:4 n-6 (AA)	0,11	0,13	0,12	0,020	ns	ns	ns	ns	ns
C20:5 n-3 (EPA)	0,04	0,04	0,04	0,008	ns	ns	ns	ns	ns
C22:2 n-6	0,06	0,06	0,06	0,011	ns	ns	ns	ns	ns
C22:4 n-6	0,01	0,02	0,01	0,006	ns	ns	ns	ns	ns
C22:5 n-3 (DPA)	0,08	0,09	0,11	0,025	ns	ns	ns	ns	ns
C22:6 n-3 (DHA)	0,04	0,04	0,04	0,010	ns	ns	ns	ns	ns

DER: desviación estándar residual.

¹Tratamientos experimentales: ración sin vitamina E (Control), ración con 400 mg/kg vitamina E sintética (Sin-E), ración con 400 mg/kg vitamina E natural (Nat-E).

²Contrastes: (1) Control vs Sin-E, (2) Control vs Nat-E, (3) Sin-E vs Nat-E, (4) Control vs Sin-E + Nat-E.

Nivel de significación: No significativo (ns), $P > 0,1$; t, $P < 0,1$; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$

Como se puede observar en la Figura 5.2., RA, C18:2 n-6 y ALA son los ácidos grasos poliinsaturados mayoritarios en la grasa de la leche de los tres tratamientos experimentales.

La inclusión de vitamina E sintética en la ración aumentó numéricamente el contenido en RA de la grasa de la leche. Estos resultados están de acuerdo con los resultados obtenidos por Zened *et al.* (2012) de manera *in vitro* en ganado vacuno, la vitamina E sintética incrementa más la proporción de RA que la vitamina E natural.

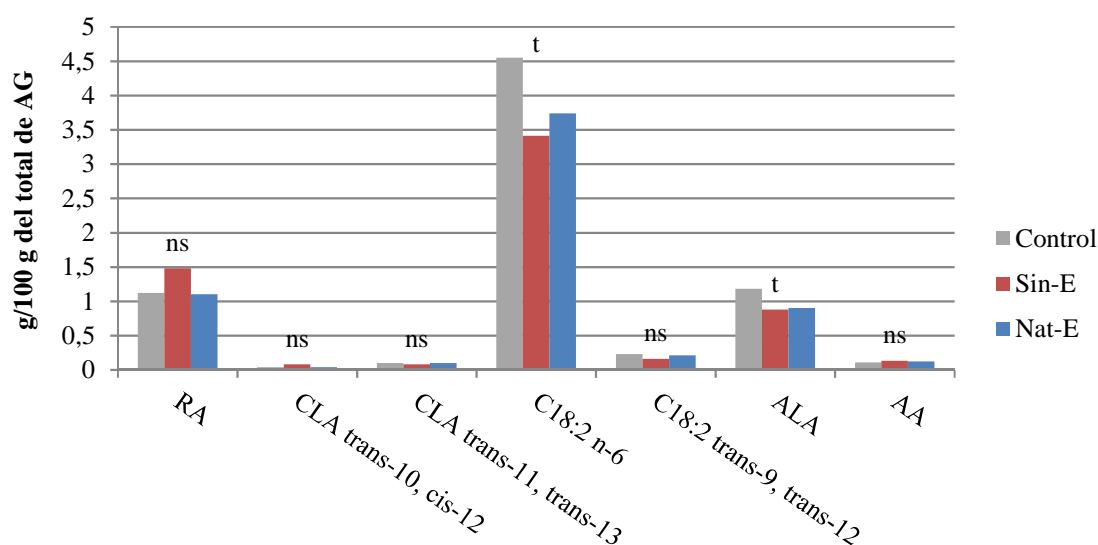


Figura 5.2. Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la grasa de la leche de los distintos tratamientos experimentales.

La mayor proporción de ácidos *trans* C18:1 absorbidos desde el rumen explicaría una mayor síntesis de CLA en la glándula mamaria, ya que la mayor parte del CLA presente en la leche proviene de la síntesis endógena por acción de la enzima delta-9 desaturasa (Lock y Bauman, 2004). Como ya se ha comentado, la vitamina E ha sido descrita como un donador de hidrógeno para la biohidrogenación del rumen, por lo que a su vez explica el incremento en la formación de isómeros *trans* C18:1 (Pottier *et al.*, 2006).

Es necesario señalar que los valores de RA observados en nuestro estudio tras la suplementación con vitamina E son inferiores a otros obtenidos que incorporaban sólo aceites a las raciones, tales como aceites de pescado (1,66 %), aceite de girasol (2,31 %), aceite de soja (2,58 %) o aceite de linaza (1,59 %) (Bodas *et al.*, 2010; Toral *et al.*, 2010a).

Estos resultados pueden ser explicados porque cuando se incorporan semillas enteras de oleaginosas, el aceite que contienen se encuentra disponible a nivel ruminal de forma más gradual que cuando se suministra de forma libre. Este hecho permite una reducción más lenta pero más completa de los ácidos grasos insaturados, originando un mayor acúmulo en el rumen y en la leche de C18:0 que es el producto de la biohidrogenación completa de los ácidos grasos PUFAs a nivel ruminal (Sanz Sampelayo *et al.*, 2007). Así, nuestros resultados concuerdan con Bouattour *et al.* (2006) que observaron menores niveles de VA y RA cuando se suplementa la ración de ovejas en lactación con semilla entera de linaza que cuando se usa aceite de linaza.

En otros estudios en vacuno se ha observado que el contenido en la leche de isómeros CLA era superior con el empleo de altas dosis de vitamina E (Pottier *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2008; Ramírez-Mella *et al.*, 2013). No obstante, aún no existe información suficiente que permita determinar con exactitud los mecanismos por los que la vitamina E afectaría al contenido de CLA en leche.

Se ha demostrado que el ácido graso *trans*-10, *cis*-12 C18:2 presenta efectos negativos para la salud humana y disminuye la síntesis de ácidos grasos en la glándula mamaria e induce el síndrome de baja grasa en la leche (Toral *et al.*, 2010b). En cambio, el RA es más deseable debido a sus propiedades que promocionan la salud, entre ellas por su efecto anticarcinogénico, antiaterosclerótico y antidiabético. Por lo tanto, estrategias nutricionales que permitan incrementar la concentración de este último en la leche de oveja plantean un gran interés.

Por otra parte, el aporte de vitamina E dio lugar a una reducción significativa ($P < 0,1$) en el contenido de ALA (ácido graso omega-3 beneficioso para la salud humana) con ambos tratamientos (Sin-E y Nat-E) de aproximadamente 0,75 veces menor en comparación con el Control.

Por último, los ácidos EPA, DPA y DHA presentaron valores marcadamente bajos, como ocurre de manera habitual en la leche de rumiantes (Luna *et al.*, 2005), y no afectados por la incorporación de vitamina E en las raciones. Únicamente, el contenido numérico de DPA presentó los mayores valores cuando se incorpora vitamina E de origen natural. Este aumento de algunos ácidos grasos omega-3 ha sido señalado, aunque no de forma

estadísticamente significativa, en algunos trabajos previos en el que se incorporan en las raciones antioxidantes de origen natural. Hasta la fecha no hemos encontrado una razón clara que pueda explicar este efecto.

5.4. Relaciones entre los ácidos grasos de la leche

En la Tabla 5.6. se muestran los sumatorios más importantes de los ácidos grasos de la grasa de la leche de las ovejas de los distintos tratamientos experimentales. Como se puede observar, la suplementación de la dieta con vitamina E disminuyó significativamente ($P < 0,05$) el contenido de PUFA, PUFA n-3 y PUFA n-6 de la grasa de la leche con respecto a la ración Control (Control vs. Sin-E + Nat-E) Sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) entre las dos fuentes de vitamina E empleadas (Sin-E vs. Nat-E).

Considerando la longitud de cadena de los ácidos grasos no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) en ningún sumatorio.

Tabla 5.6. Sumatorios de los distintos ácidos grasos (g/100 g de grasa total) de la grasa de la leche de las ovejas correspondiente a los distintos tratamientos experimentales.

	Tratamiento ¹			DER	Nivel de significación	Contraste ²			
	Control	Sin-E	Nat-E			1	2	3	4
SFA	59,06	63,26	62,02	3,486	ns	ns	ns	ns	ns
MUFA	32,63	29,53	30,84	3,165	ns	ns	ns	ns	ns
PUFA	8,30	7,21	7,14	0,701	t	t	*	ns	*
PUFA n-3	1,29	0,97	1,00	0,207	ns	t	t	ns	*
PUFA n-6	4,72	3,63	3,89	0,656	t	*	ns	ns	*
AG cadena corta	4,64	4,87	4,88	0,403	ns	ns	ns	ns	ns
AG cadena media	10,29	10,44	9,65	2,592	ns	ns	ns	ns	ns
AG cadena larga	85,00	84,61	85,41	2,827	ns	ns	ns	ns	ns
AG cadena ramificada ³	1,64	1,57	1,40	0,251	ns	ns	ns	ns	ns

¹Tratamientos experimentales: ración sin vitamina E (Control), ración con 400 mg/kg vitamina E sintética (Sin-E), ración con 400 mg/kg vitamina E natural (Nat-E).

²Contrastes: (1) Control vs Sin-E, (2) Control vs Nat-E, (3) Sin-E vs Nat-E, (4) Control vs Sin-E + Nat-E.

³AG de cadena ramificada = *iso*-C14 + *iso*-C15 + *anteiso*-C15 + *iso*-C16 + *iso*-C17 + *anteiso*-C17. Nivel de significación: No significativo (ns), $P > 0,1$; t, $P < 0,1$; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$

En la Figura 5.6. se presentan los porcentajes de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de la grasa de la leche de las ovejas. De acuerdo con Bodas *et al.* (2010) el bajo contenido de SFA y el alto contenido de MUFA y PUFA presente en la grasa de la leche de todos los tratamientos, en comparación con el contenido normal de la grasa de la leche de la oveja sin grasas añadidas, son el resultado del perfil

de ácidos grasos de la semilla extrusionada de lino y de la biohidrogenación incompleta de los PUFA de la dieta.

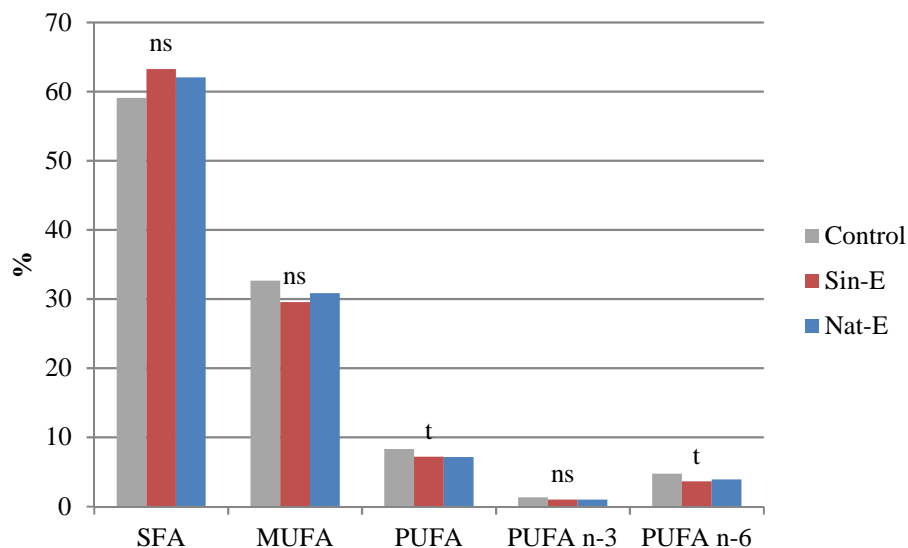


Figura 5.3. Porcentajes de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de la grasa de la leche de las ovejas correspondientes a los diferentes tratamientos experimentales.

Las concentraciones extremadamente bajas de PUFA n-3 en la grasa de la leche de todos los tratamientos experimentales están de acuerdo con los resultados obtenidos por otros autores en ovejas cuyas dietas fueron suplementadas con semilla extrusionada de lino (Gómez-Cortes *et al.*, 2009) o con aceite de linaza (Bodas *et al.*, 2010).

En la Tabla 5.7. se presentan distintos índices que relacionan ácidos grasos y que se utilizan para clasificar la calidad nutritiva y funcional de la grasa de la leche. La suplementación de la dieta de las ovejas en la fase intermedia de lactación con vitamina E (Control *vs.* Sin-E+Nat-E) disminuyó significativamente la relación PUFA/SFA ($P < 0,05$), debido probablemente al menor contenido en PUFA de la grasa de la leche de los tratamientos con vitamina E (Sin-E y Nat-E). Por otro lado, el índice de trombogenicidad fue significativamente mayor ($P < 0,05$) en la grasa de la leche de las ovejas cuyas raciones fueron suplementadas con vitamina E (Control *vs.* Sin-E+Nat-E), debido probablemente a los descensos observados en PUFA n-6 y n-3 en dichos tratamientos. Aunque este aumento supondría una leche con una grasa menos saludable desde el punto

de vista cardiovascular, los valores están dentro de los valores recomendados para la salud humana ($IT < 3$) y son los típicos para productos lácteos.

El índice desaturasa (ID) estima la actividad de la enzima stearyl-CoA desaturasa o Δ^9 desaturasa comparando los ratios producto/precursor, siendo importante para la producción de CLA y MUFA a partir de ácido grasos poliinsaturados. No se observan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) debidas a la incorporación de vitamina E (natural o sintética) en los índices desaturasa (C14:1, C16:1, C18:1 y CLA).

Tabla 5.7. Índices de los distintos ácidos grasos correspondientes a los distintos tratamientos experimentales.

	Tratamiento ¹			DER	Nivel de significación	Contraste ²			
	Control	Sin-E	Nat-E			1	2	3	4
ID C14:1 ³	0,11	0,10	0,13	0,024	ns	ns	ns	t	ns
ID C16:1 ³	0,04	0,03	0,04	0,005	ns	ns	ns	t	ns
ID C18:1 ³	0,60	0,57	0,54	0,039	ns	ns	ns	ns	ns
ID CLA ³	1,50	1,80	1,40	0,554	ns	ns	ns	ns	ns
n-6/n-3	3,66	3,83	3,93	0,488	ns	ns	ns	ns	ns
PUFA/SFA	0,14	0,11	0,12	0,015	t	*	t	ns	*
IA ⁴	1,42	1,69	1,61	0,291	ns	ns	ns	ns	ns
IT ⁵	1,80	2,31	2,20	0,301	t	*	t	ns	*
h/H ⁶	0,93	0,83	0,85	0,187	ns	ns	ns	ns	ns

¹Tratamientos experimentales: ración sin vitamina E (Control), ración con 400 mg/kg vitamina E sintética (Sin-E), ración con 400 mg/kg vitamina E natural (Nat-E)

²Contrastes: (1) Control vs Sin-E, (2) Control vs Nat-E, (3) Sin-E vs Nat-E, (4) Control vs Sin-E + Nat-E.

³Índice desaturasa 14:1 = C14:1/(C14:0 + C14:1); índice desaturasa 16:1 (C16:1 n7 + n9)/(C16:0 + C16:1 n7 + n9); índice desaturasa 18:1 = C18:1/(C18:0 + C18:1); índice desaturasa CLA = cis-9, trans-11 C18:2/(cis-9, trans-11 C18:2 + trans-11 C18:1)

⁴Índice de aterogenicidad = (C12:0 + 4 x C14:0 + C16:0)/(MUFA + PUFA) (Ulbricht y Southgate, 1991)

⁵Índice de trombogenicidad = (C14:0 + C16:0 + C18:0)/(0,5MUFA + 0,5PUFA n-6 + 3PUFA n-3 + (PUFA n-3/PUFA n-6)) (Ulbricht y Southgate, 1991)

⁶Relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos = (C18:1 + PUFA)/(C14:0 + C16:0)
Nivel de significación: No significativo (ns), $P > 0,1$; t, $P < 0,1$; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$

La relación n-6/n-3 es un importante índice que evalúa el valor nutricional de la grasa, así como un indicador de riesgo de sufrir determinadas enfermedades. De acuerdo con algunos autores, cantidades elevadas de PUFA n-6 y relaciones n-6/n-3 elevadas en la alimentación humana predisponen a padecer diversas patologías entre las que se incluyen enfermedades cardiovasculares, enfermedades inflamatorias y autoinmunes y algunos tipos de cáncer. En este sentido, se ha establecido que la relación n-6/n-3 debe ser inferior a 4:1 para la leche cruda, siendo el rango comprendido entre 1:1 y 2:1 el más adecuado para la salud humana (Simopoulos, 2010). Los valores obtenidos en nuestro estudio se mantienen por debajo de 4:1, por lo tanto, la alimentación de las ovejas con estos niveles

de vitamina E no presenta ningún inconveniente para obtener un producto saludable desde el punto de vista de la nutrición humana.

5.5. Vitamina E

En la Tabla 5.8. y en la Figura 5.4. se presentan los valores medios relativos al contenido en vitamina E de la leche de los distintos tratamientos experimentales. Como se puede observar, la suplementación de la ración con vitamina E, sintética o natural, de la dieta de las ovejas en lactación, permitió aumentar significativamente ($P < 0,001$) su contenido en la leche de las ovejas.

Tabla 5.8. Contenido medio de vitamina E ($\mu\text{g}/\text{ml}$ leche) pertenecientes a los tres tratamientos experimentales.

	Tratamiento			Error estándar	Nivel de significación
	Control	Sin-E	Nat-E		
Vitamina E	0,08 ^c	0,52 ^b	1,40 ^a	0,142	***

Nivel de significación: No significativo (ns), $P > 0,1$; t, $P < 0,1$; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$.

^{a-c} Las medias con superíndices distintos muestran diferencias significativas.

A pesar de que algunos estudios han indicado que la transferencia de la vitamina E del alimento a la leche es baja (McDowell *et al.*, 1996), de acuerdo con estudios realizados en ganado ovino (Capper *et al.*, 2005; Gallardo *et al.*, 2015) y vacuno (Meglia *et al.*, 2006; Weiss *et al.*, 2009) la suplementación de la ración con vitamina E, sintética o natural, ha permitido incrementar su contenido en la leche. Este aspecto puede ser importante si se quieren desarrollar productos lácteos enriquecidos en ácidos grasos poliinsaturados y alta estabilidad oxidativa que permita alargar su vida útil.

Además, puesto que la vitamina E natural presenta mayor bioactividad que la sintética a la misma dosis, se observó que el contenido en vitamina E de la leche fue mayor al incluir vitamina E natural que sintética. La concentración de vitamina E en la leche fue 2,69 veces mayor en las ovejas suplementadas con vitamina E natural respecto a las suplementadas con vitamina E sintética. Estos resultados coinciden con otros estudios en vacuno de leche. Así, Meglia *et al.* (2006) y Weiss *et al.*, (2009) observaron, respectivamente, una concentración 1,24 y 1,43 veces superior de vitamina E en la leche de vacas alimentadas con vitamina E natural con respecto a la administración de vitamina E sintética.

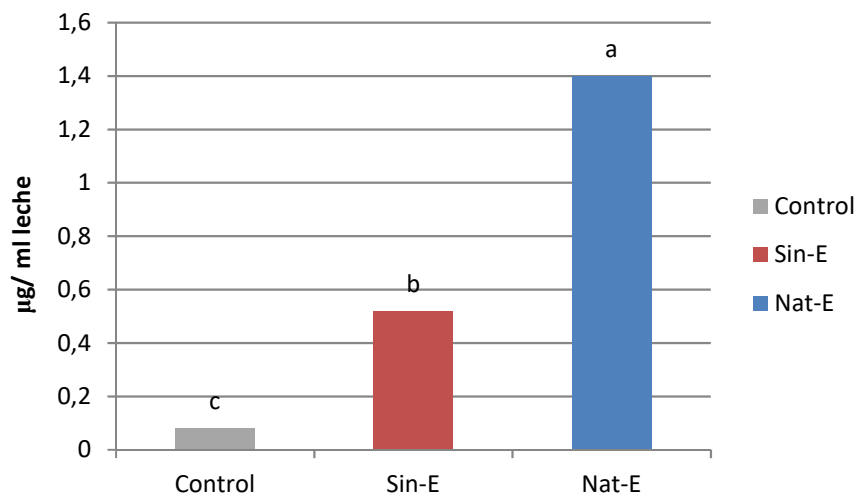


Figura 5.4. Contenido medio de vitamina E de cada uno de los tres tratamientos experimentales.

6. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo ponen de manifiesto las siguientes conclusiones:

Primera. La inclusión de 400 mg/kg de vitamina E, sintética o natural, en la ración de ovejas en la fase intermedia de lactación enriquecidas con ácido alfa linolénico procedente de semilla extrusionada de lino no afectó a la producción ni a la composición de la leche producida.

Segunda. El efecto del tipo de vitamina E incorporada en dietas de ovejas en lactación suplementadas con semilla extrusionada de lino sobre el perfil de ácidos grasos de la leche fue limitado, aunque se observaron alguna tendencias a incrementar VA y reducir ácidos grasos trans 10 asociado con efectos beneficioso para la salud humana..

Tercero. La inclusión de 400mg/kg de vitamina E, sintética o natural, en la ración de ovejas en la fase intermedia de lactación permite aumentar el contenido de vitamina E en la leche de las ovejas. La transferencia de vitamina E de la dieta a la leche es baja, observándose 2,69 veces mayor la trasferencia a la leche cuando se incorpora vitamina E natural. Estos resultados deberían tenerse en cuenta para poder establecer la dosis óptima de vitamina E a incorporar en las raciones que permita prevenir la oxidación de la grasa láctea y alargar la vida útil de los productos resultantes.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Addis, M., Cabiddu, A., Pinna, G., Decandia, M., Piredda, G., Pirisi, A., Molle, G., 2005. Milk and cheese fatty acid composition in sheep fed mediterranean forages with reference to conjugated linoleic acid *cis*-9,*trans*-11. *Journal of Dairy Science* 88, 3443–3454.
- Al-Mabruk, R.M., Beck, N.F., Dewhurst, R.J., 2004. Effects of silage species and supplemental vitamin E on the oxidative stability of milk. *Journal of Dairy Science* 87, 406–412.
- Albenzio, M., Santillo, A., Caroprese, M., d'Angelo, F., Marino, R., Sevi, A., 2009. Role of endogenous enzymes in proteolysis of sheep milk. *Journal of Dairy Science* 92, 79–86.
- Annett, R.W., Dawson, L.E.R., Edgar, H., Carson, A.F., 2009. Effects of source and level of fish oil supplementation in late pregnancy on feed intake, colostrum production and lamb output of ewes. *Animal Feed Science and Technology* 154, 169–182.
- Antongiovanni, M., Mele, M., Buccioni, A., Petacchi, F., Serra, A., Melis, M.P., Cordeddu, L., Banni, S., Secchiari, P., 2004. Effect of forage/concentrate ratio and oil supplementation on C18:1 and CLA isomers in milk fat from Sarda ewes. *Journal of Animal and Feed Science* 13, 669–672.
- AOAC, 2003. Official Method of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 17th Ed. AOAC International, Gaithersburg (Estados Unidos).
- Apeleo, E.C., 2016. *Antioxidantes naturales en la dieta de cordero para preservar las características físicas, químicas y sensoriales de su carne enriquecida en ácidos grasos omega 3*. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
- Azzi, A., Gysin, R., Kempná, P., Munteanu, A., Negis, Y., Villacorta, L., Visarius, T., Zingg, J. M., 2004. Vitamin E Mediates Cell Signaling and Regulation of Gene Expression. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1031, 86–95.
- Baldi, A., Savoini, G., Pinotti, L., Monfardini, E., Cheli, F., Dell'Orto, V., 2000. Effects of vitamin E and different energy sources on vitamin E status, milk quality and reproduction in transition cows. *Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine* 47, 599–608.
- Barron, L. J. R., de Labastida, E. F., Perea, S., Chavarri, F., de Vega, C., Vicente, M. S., Torres, M. I., Najera, A. I., Virto, M., Santisteban, A., Pérez-Elortondo, F. J., Albisu, M., Salmerón, J., Mendía, C., Torre, P., Ibáñez, F. C., de Renobales, M., 2001. Seasonal changes in the composition of bulk raw ewe's milk used for Idiazabal cheese manufacture. *International Dairy Journal* 11, 771–778.
- Bauman, D.E., Corl, B.A., Peterson, D.G., 2003. The biology of conjugated linoleic acids in ruminants. En: *Advances in CLA Research* Volumen 2 (J.L. Sebedio, W.W. Christie, R. Adlof. Eds.) 146-173. AOCS Press, Champaign, Illinois (Estados Unidos).
- Benjamin, S., Spener, F., 2009. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits. *Nutrition & Metabolism* 6, 36.

Bianchi, L., Casoli, C., Pauselli, M., Budelli, E., Caroli, A., Bolla, A., Duranti, E., 2004. Effect of somatic cell count and lactation stage on sheep milk quality. *Italian Journal of Animal Science* 3, 147–156.

Bjørneboe, A., Bjørneboe, G.E., Drevon, C.A., 1990. Absorption, transport and distribution of Vitamin E. *Journal of Nutrition* 120, 233–242.

Bocquier, F., Caja G., 2001. Production et composition du lait de brebis: effets de l'alimentation. *Inra Productions Animales* 14, 129–140.

Bodas, R., Manso, T., Mantecon, A.R., Juárez, M., De la Fuente, M.A., Gómez-Cortés, P., 2010. Comparison of the fatty acid profiles in cheeses from ewes fed diets supplemented with different plant oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 10493–10502.

Bouattour, M.A., 2007. *Efecto 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. Universidad Autónoma de Barcelona.

Brigelius-Flohé R., Traber M.G., 1999. Vitamin E: function and metabolism. *The FASEB Journal* 13, 1145–55.

Capper, J.L., Wilkinson, R.G., Kasapidou, E., Pattinson, S.E., Mackenzie, A.M., Sinclair, L.A., 2005. The effect of dietary vitamin E and fatty acid supplementation of pregnant and lactating ewes on placental and mammary transfer of vitamin E to the lamb. *British Journal of Nutrition* 93, 549–557.

Capper, J. L., Wilkinson, R. G., Mackenzie, A. M., Sinclair, L. A., 2007. The effect of fish oil supplementation of pregnant and lactating ewes on milk production and lamb performance. *Animal* 1, 889–898.

Castillo, C., Pereira, V., Abuelo, A., Hernández, J., 2013. Effect of supplementation with antioxidants on the quality of bovine milk and meat production. *The Scientific World Journal* Volume 2013, Artículo ID 616098.

Chilliard, Y., Ferlay, A., Mansbridge, R. M., Doreau, M., 2000. Ruminant milk fat plasticity: Nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Annual Zootechnolgy* 49, 181–205.

Chilliard, Y., Ferlay, A., Rouel, J., Lamberet, G., 2003. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *Journal of Dairy Science* 86, 1751–1770.

Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J., Doreau, M., 2007. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 828–855.

Chiofalo, B. Liotta, L. Zumbo, A. Chiofalo, V., 2004. Administration of olive cake for ewe feeding: effect on milk yield and composition. *Small Ruminant Research* 55, 169–176.

Correddu F., Nudda A., Manca M.G., Pulina G., Dalsgaard T.K., 2015. Light-induced lipid oxidation in sheep milk: effects of dietary grape seed and linseed, alone or in combination, on milk oxidative stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63, 3980–3986.

Cottier, M., 1981. Recherche sur les causes non génétiques des différences dans les teneurs en MG et MA des laits de brebis. En: *6èmes Journées de la Recherche Ovine et Caprine*, Toulouse, 2-3 December. 365-381 INRA-ITOVIC, Paris (Francia).

Czauderna, M., Kowalczyk, J., 2007. Alkaline saponification results in decomposition of tocopherols in milk and ovine blood plasma. *Journal of Chromatography B* 858, 8–12.

Debier, C., Pottier, J., Goffe, C., Larondelle, Y., 2005. Present knowledge and unexpected behaviours of vitamins A and E in colostrum and milk. *Livestock Production Science* 98, 135–147.

Demirel, G., Wachira, A.M., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Wood, J.D., Enser, M., 2004. Effects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids, breed and dietary vitamin E on the fatty acids of lamb muscle, liver and adipose tissue. *British Journal of Nutrition* 91, 551–565.

Dersjant-Li, Y., Peisker, M., 2010. Utilization of stereoisomers from alpha-tocopherol in livestock animals. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 94, 413–421.

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.

Dønnem, I., Randby, Å.T., Hektoenb, L., Avdem, F., Meling, S., Vågeb, Å.Ø., Ådnøy T., Steinheim, G., Waage, S., 2015. Effect of vitamin E supplementation to ewes in late pregnancy on the rate of stillborn lambs. *Small Ruminant Research* 125, 154–162.

Doreau, M., Laverroux, S., Normand, J., Chesneau, G., Glasser, F., 2009. Effect of linseed fed as rolled seeds, extruded seeds or oil on fatty acid rumen metabolism and intestinal digestibility in cows. *Lipids* 44, 53–62.

FIL-IDF, 1999. Milk Fat. Preparation of fatty acid methyl esters. International Standard ISO 182. International Dairy Federation, Brussels (Bélgica).

Fuentes, M.C., Calsamiglia, S., Cardozo, P.W., Vlaeminck, B., 2009. Effect of pH and level of concentrate in the diet on the production of biohydrogenation intermediates in a dual-flow continuous culture. *Journal of Dairy Science* 92, 4456–4466.

Gallardo, B., Manca, M.G., Mantecón, A.R., Nudda, A., Manso, T., 2015. Effects of linseed oil and natural or synthetic vitamin E supplementation in lactating ewes' diets on meat fatty acid profile and lipid oxidation from their milk fed lambs. *Meat Science* 102, 79–89.

García-Rodríguez, A., Mandaluniz, N., Arranz, J., Goiri, I., 2011. Inclusión de quitosano en la dieta de ovejas lecheras al inicio de la lactación. En: *XIV Jornadas sobre Producción Animal de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA)*. Tomo I. pp. 222–224. AIDA, Zaragoza (España).

- Gliszczyńska-Świgło, A., Sikorska, E., Khmelinskii, I., & Sikorski, M., 2007. Tocopherol content in edible plant oils. *Polish Journal Of Food And Nutrition Sciences*, 57, 157–161.
- Gómez Candela, C., Bermejo López, L.M., Loria Kohen, V., 2011. Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health: nutritional recommendations. *Nutrición Hospitalaria* 26, 323–329.
- Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Mantecón, A. R., Juárez, M., De La Fuente, M. A., Hervás, G., 2009a. Effect of supplementation on grazing dairy ewes with a cereal concentrate on animal performance and milk fatty acid profile. *Journal of Dairy Science* 92, 3964–3972.
- Gómez-Cortés, P., Bach, A., Luna, P., Juárez, M., De La Fuente, M. A., 2009b. Effects of extruded linseed supplementation on n-3 fatty acids and conjugated linoleic acid in milk and cheese from ewes. *Journal of Dairy Science* 92, 4122–4134.
- Gómez-Cortés, P., Gallardo, B., Mantecón, A. R., Juárez, M., De La Fuente, M. A., Manso, T., 2014. Effects of different sources of fat (calcium soap of palm oil vs. extruded linseed) in lactating ewes' diet on the fatty acid profile of their suckling lambs. *Meat Science* 96, 1304 – 1312.
- Goudjil, H., Fontecha, J., Luna, P., de la Fuente, M.A., Alonso L., Juárez M., 2004. Quantitative characterization of unsaturated and trans fatty acid in ewe's milk fat. *Lait* 84, 473–482.
- Grilo, E.C., Costa, P. N., Gurgel, C. S. S., Beserra, A. F. de Lima, Almeida, F. N. de Souza, Dimenstein, R., 2014. Alpha-tocopherol and gamma-tocopherol concentration in vegetable oils. *Food Science and Technology (Campinas)* 34, 379–385.
- Haenlein, G.F.W., Wendorff, W.L., 2006. Sheep milk production and utilization of sheep milk. En: *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals*. (Y.W. Park, G.F.W. Haenlein, eds.). pp. 137–194. Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa (Estados Unidos).
- Hemingway, R.G., 2003. The Influences of Dietary Intakes and Supplementation with Selenium and Vitamin E on Reproduction Diseases and Reproductive Efficiency in Cattle and Sheep. *Veterinary Research Communications* 27, 159–174.
- Hervás, G., Luna P., Mantecón A.R., Castañares N., de la Fuente M.A., Juárez M., Frutos P., 2008. Effect of diet supplementation with sunflower oil on milk production, fatty acid profile and ruminal fermentation in lactating dairy ewes. *Journal of Dairy Research* 75, 399–405.
- Jensen, R.G. 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science* 85, 295–350.
- Juárez, M., de la Fuente, M.A., Fontecha, J., 2015. Los nutrientes de la leche en la salud cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria* 31, 26–32.
- Kashiwagi S., Huang P. L., 2012. Dietary Supplements and Cardiovascular Disease: What is the Evidence and What Should We Recommend? En: *Cardiovascular Risk Factors* (A. Gasparyan Ed.). ISBN: 978-953-51-0240-3.

- Kay, J. K., Roche, J. R., Kolver, E. S., Thomson, N. A., Baumgard, L. H., 2005. A comparison between feeding systems (pasture and TMR) and the effect of vitamin E supplementation on plasma and milk fatty acid profiles in dairy cows. *Journal of Dairy Research* 72, 322–332.
- Kelsey, J.A., Corl, B.A., Collier, R.J., Bauman, D.E., 2003. The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *Journal of Dairy Science* 86, 2588–2597.
- Labussière, J., 1988. Review of physiological and anatomical factors influencing the milking ability of ewes and the organization of milking. *Livestock Production Science* 18, 253–274.
- Liu, Z. L., Yang, D. P., Chen, P., Dong, W. X., Wang, D.M., 2008. Supplementation with Selenium and Vitamin E Improves Milk Fat Depression and Fatty Acid Composition in Dairy Cows Fed Fat Diet. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 21, 838–844.
- 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.
- Luna, P., Fontecha, J., Juárez, M., de la Fuente, M.A., 2005. Conjugated linoleic acid in ewe milk fat. *Journal of Dairy Research* 72, 415–424.
- Manso, T., Gallardo, B. 2012. 9. Manso, T. y Gallardo, B. 2012. Composición y origen de la grasa de la leche de oveja: estrategias nutricionales para aumentar los niveles de CLA y ácidos grasos omega-3 de la grasa láctea. *Tierras* 2, 50-60.
- Manso, T., Gallardo, B., Guerra-Rivas, C., 2016. Modifying milk and meat fat quality through feed changes. *Small Ruminant Research* 142, 31–37.
- Martini, M., F. Salari, C. Scolozzi, L. Bianchi, M. Pauselli, E. Rossetti, P. Verità. 2006. Morphometric characteristics of sheep milk fat globules (part 1): Influence of genetic type and phase of lactation. En: *Proc. of the 14th International Congress of Fe.Me.S.P.Rum.* 667–671. Santiago de Compostela (Spain).
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan C.A., Sinclair L.A., Wilkinson R.G., 2011. *Animal Nutrition*. 7th Edition. Longman, London (Reino Unido).
- McDowell, L.R., Williams, S.N., Hidiroglou, N., Njeru, C.A., Hill, G.M., Ochoa, L., Wilkinson, N.S., 1996. Vitamin E supplementation for the ruminant. *Animal Feed Science and Technology* 60, 273–296.
- McKusick, B.C., Thomas, D.L., Berger, Y.M., Marnet, P.G., 2002. Effect of milking interval on alveolar versus cisternal milk accumulation and milk production and composition in dairy ewes. *Journal of Dairy Science* 85, 2197–2206.
- Meglia, G.E., Jenkins, S.K., Lauridsen, C., Waller, K.P., 2006. α -Tocopherol concentrations and stereoisomer composition in plasma and milk from dairy cows fed natural or synthetic vitamin E around calving. *Journal of Dairy Science* 73, 227–234.
- Michaelidou, A. M., 2008. Factors influencing nutritional and health profile of milk and milk products. *Small Ruminant Research* 79, 42–50.

- National Research Council, 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants. Sheep, goats, cervids, and new world camelids*. National Academy Press, Washington, DC (Estados Unidos).
- Njeru, C.A., McDowell, L.R., Wilkinson, N.S., Linda, S.B., Williams, S.N., 1994. Pre- and postpartum supplemental dl-alpha-tocopheryl acetate effects on placental and mammary vitamin E transfer in sheep. *Journal of Animal Science* 72, 1636–1640.
- Nudda, A., Bencini, R., Mijatovic, S., Pulina, G., 2002. The yield and composition of milk in Sarda, Awassi, and Merino sheep milked unilaterally at different frequencies. *Journal of Dairy Science* 85, 2879–2884.
- O'Donnell-Megaró, A.M., Capper, J.L., Weiss, W.P., Bauman, D.E., 2012. Effect of linoleic acid and dietary vitamin E supplementation on sustained conjugated linoleic acid production in milk fat from dairy cows. *Journal of Dairy Science* 95, 7299–7307.
- Oravcová, M., Margetín, M., Peškovičová, D., Daňo, J., Milerski, M., Hetényi, L., 2007. Factors affecting ewe's milk fat and protein content and relationships between milk yield and milk components. *Czech Journal of Animal Science* 52, 189–198.
- Othmane, M. H., De La Fuente, L. F., Carriedo, J. A., San Primitivo, F., 2002. Heritability and genetic correlations of test day milk yield and composition, individual laboratory cheese yield, and somatic cell count for dairy ewes. *Journal of Dairy Science* 85, 2692–2698.
- Palmquist, D.L., Lock, A.L., Shingfield, K.J., Bauman, D.E., 2005. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. En: *Advances in food and nutrition research*. Vol. 50. (S. Taylor, ed.) pp. 179–217. Elsevier Academic Press, San Diego (Estados Unidos).
- Park, Y.W., Juárez, M., Ramos, M., Haenlein, G.F.W., 2007. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research* 68, 88–113.
- Parodi, P. 2003. Conjugated linoleic acid in food. En: *Advances in conjugated linoleic acid research*, Vol. 2 (J. Sebedio, Christie, W.W., Adolf, R. Eds), 101–12. AOCS. Press, Champaign, Illinois (Estados Unidos).
- Parodi, P.W., 2009. Has the association between saturated fatty acids, serum cholesterol and coronary heart disease been over emphasized? *International Dairy Journal* 19, 345–361.
- Pauselli, M., Bolla, A., Casoli, C., Duranti, E., 2001. Effect of vitamin E and selenium administration on sheep milk quality. En: *Proceedings of the 14th National Congress of ASPA*. 505–507. Firenze (Italia).
- Pazzola, M., Dettori, M.L., Cipolat-Gotet, C., Cecchinato, A., Bittante, G., Vacca, G.M., 2014. Phenotypic factors affecting coagulation properties of milk from Sarda ewes. *Journal of Dairy Science* 97, 7247–7257.
- Pekmezci, D., 2011. Vitamin E and immunity. *Vitamins and Hormones* 86, 179–215.
- Politis, I., Bizelis I., Tsiaras A., Baldi A., 2004. Effect of vitamin E supplementation on neutrophil function, milk composition and plasmin activity in dairy cows in a commercial herd. *Journal of Dairy Research* 71, 273–278.

- Politis, I., 2012. Reevaluation of vitamin E supplementation of dairy cows: bioavailability, animal health and milk quality. *Animal* 6, 1427–1434.
- Pottier, J., Focant, M., Debier, C., De Buysser, G., Goffe, C., Mignolet, E., Froidmont, E., Larondelle, Y., 2006. Effect of dietary vitamin E on rumen biohydrogenation pathways and milk fat depression in dairy cows fed high-fat diets. *Journal of Dairy Science* 89, 685–692.
- Pulido, E., Giráldez, F.J., Bodas, R., Andrés, S., Prieto, N., 2012. Effect of reduction of milking frequency and supplementation of vitamin E and selenium above requirements on milk yield and composition in Assaf ewes. *Journal of Dairy Science* 95, 3527–3535.
- Pulina G., Nudda A., 2004. Milk production. En: Dairy Sheep Nutrition: pp 1-2 (G. Pulina, R. Bencini, Eds). CABI Publishing, London (Reino Unido).
- Pulina, G., Nudda, A., Battacone, G., Cannas, A., 2006. Effects of nutrition on the contents of fat, protein, somatic cells, aromatic compounds, and undesirable substances in sheep milk. *Animal Feed Science and Technology* 131, 255–291.
- Ramírez Andrade, B., Salama, A.A.K., Caja, G., Castillo, V., Albanell, E., Such X., 2008. Response to lactation induction differs by season of year and breed of dairy ewes. *Journal of Dairy Science* 91, 2299–2306.
- Ramírez-Mella, M., Hernández-Mendo, O., Ramírez-Bribiesca, E.J., Améndola-Massiotti, R.A., Crosby-Galván, M.M., Burgueño-Ferreira, J.A., 2013. *Tropical Animal Health and Production* 45, 1783–1788.
- Rammel, C.G., 1983. Vitamin E status of cattle and sheep 1: A background review. *New Zealand Veterinary Journal* 31, 179–181.
- Ramos, M., Juárez, M., 2003. Sheep milk. En: *Encyclopedia of dairy sciences*. Vol. 4. (Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F., Eds). 2539–2545. Academic Press, Amsterdam (Países Bajos).
- Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., Chilliard, Y., 2008. Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Ruminant Research* 79, 57–72.
- Recio, I., de la Fuente, M. A., Juárez, M., Ramos, M., 2009. Bioactive Components in Sheep Milk. En: *Bioactive Components in Milk and Dairy Products* (Y. W. Park, Ed.). Wiley-Blackwell, Oxford (Reino Unido).
- Requena, R., Molina, P., Fernández, N., Rodríguez, M., Peris, C., Torres, A., 1999. Changes in milk and cheese composition throughout lactation in Manchega sheep. En: *Milking and milk production of dairy sheep and goats*, Volumen 95 (Barillet, N. P. Zervas, Ed). 501–506 Wageningen Pers, Wageningen, Países Bajos.
- Revilla, I., Escuredo, O., González-Martín, M. I., Palacios, C. 2017. Fatty acids and fat-soluble vitamins in ewe's milk predicted by near infrared reflectance spectroscopy. Determination of seasonality. *Food Chemistry* 214, 468–477.

- 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.
- Rodas Mendoza, B., Morera Pons, S., Castellote Bargalló, A.I., López-Sabater, M.C., 2003. Rapid determination by reversed-phase high-performance liquid chromatography of Vitamins A and E in infant formulas. *Journal of Chromatography A* 1018, 197-202.
- Russel, A. J. F., Doney, J. M., Gunn, R. G., 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *Journal of Agricultural Science* 72, 451–454.
- Sanz Sampelayo, M.R., Chilliard, Y., Schmidely, P., Boza, J., 2007. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research* 68, 42–63.
- Scherf, H., Machlin, L.J., Frye, T.M., Krautmann, B.A., Williams, S.N., 1996. Vitamin E biopotency: comparison of various “natural-derived” and chemically synthesized α -tocopherols. *Feed Science and Technology* 59, 115–126.
- Schwartz, H., Ollilainen, V., Piironen, V., & Lampi, A., 2008. Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. *Journal of Food Composition and Analysis* 21, 152–161.
- Shingfield, K.J., Bernard, L., Leroux, C., Chilliard, Y., 2010. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal* 4, 1140–1166.
- Shingfield, K.J., Bonnet, M., Scollan, N.D., 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal* 7, 132–162.
- Shingfield K. J., Wallace R. J., 2014. Synthesis of Conjugated Linoleic Acid in Ruminants and Humans. En: *Conjugated Linoleic Acids and Conjugated Vegetable Oils*, 1–65.
- Simopoulos, A.P., 2010. The omega-6/omega-3 fatty acid ratio: health implications. *OCL* 17, 267–275.
- Slots, T., Skibsted, L. H., Nielsen, J. H., 2007. The difference in transfer of all-rac-a-tocopherol stereo-isomers to milk from cows and the effect on its oxidative stability. *International Dairy Journal* 17, 737–745.
- Tanaka, K., 2005. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. *Animal Science Journal* 76, 291–303.
- Toral, P. G., Frutos, P., Hervás, G., Gómez-Cortés, P., Juárez, M., de la Fuente, M.A., 2010a. Changes in milk fatty acid profile and animal performance in response to fish oil supplementation, alone or in combination with sunflower oil, in dairy ewes. *Journal of Dairy Science* 93, 1604–1615.
- Toral, P. G., Hervás, G., Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Juárez M., de la Fuente, M. A., 2010b. Milk fatty acid profile and dairy sheep performance in response to diet supplementation with sunflower oil plus incremental levels of marine algae. *Journal of Dairy Science* 93, 1655–1667.

Traber, M. G., Arai, H., 1999. Molecular mechanisms of vitamin E transport. *Annual Review of Nutrition* 19, 343–355.

Traber, M. G., 2012. Vitamin E. En: *Present Knowledge in Nutrition*, Tenth Edition (J. W. Erdman, I. A. Macdonald, S. H. Zeisel, eds). Wiley-Blackwell, Oxford (Reino Unido).

Tripathi, M.K., 2014. Effect of Nutrition on Production, Composition, Fatty acids and Nutraceutical Properties of Milk. *Journal of Advances in Dairy Research* 2, 115.

Ulbrich, T.L., Southgate, D.A., 1991. Coronary heart disease seven dietary factors. *Lancet* 338, 985–992.

Vagni, S., Saccone, F., Pinotti, L., Baldi, A., 2011. Vitamin E Bioavailability: Past and Present Insights. *Food and Nutrition Sciences* 2, 1088–1096.

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74, 3583–3597.

Weiss, W.P., Smith, K.L., Hogan, J.S., Steiner, T.E., 1995. Effect of forage to concentrate ratio on disappearance of vitamins A and E during in vitro ruminal fermentation. *Journal of Dairy Science* 78, 1837–1842.

Weiss, W.P., 2002. Antioxidant nutrients and milk quality. En: Roche symposium, pacific Northwest nutrition conference, British Columbia, Vancouver (Canada).

Weiss, W.P., Hogan, J.S., Wyatt, D.J., 2009. Relative bio-availability of all-rac and RRR vitamin E based on neutrophil function and total α -tocopherol and isomer concentration in periparturient dairy cows and their calves. *Journal of Dairy Science* 92, 720–731.

Wendorff, W.L., 2005. Sheep milk and milk products: composition. En: *Encyclopedia of animal science* (Pond, W.G., Bell, A.W., eds). Nueva York (Estados Unidos).

Zened, A., Troegeler-Meynadier, A., Najjar, T., Enjalbert, F., 2012. Effects of oil and natural or synthetic vitamin E on ruminal and milk fatty acid profiles in cows receiving a high-starch diet. *Journal of Dairy Science* 95, 5916–5926.