



Universidad de Valladolid

E.T.S. INGENIERIAS AGRARIAS

DEPARTAMENTO CIENCIAS AGROFORESTALES

TESIS DOCTORAL

**USE OF DIFFERENT SOURCES OF FAT IN LACTATING CHURRA
EWE DIETS: EFFECTS ON ANIMAL PERFORMANCE AND
PRODUCT QUALITY**

**UTILIZACIÓN DE DIFERENTES FUENTES LIPÍDICAS
EN LA RACIÓN DE OVEJAS CHURRAS EN LACTACIÓN:
EFECTO SOBRE LOS RENDIMIENTOS Y CALIDAD DE LOS
PRODUCTOS**

Presentada por **Beatriz Gallardo García** para optar al grado de
doctora por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:
Dra. Teresa Manso Alonso
Dr. Ángel Ruiz Mantecón



Universidad de Valladolid

E.T.S. INGENIERIAS AGRARIAS

DEPARTAMENTO CIENCIAS AGROFORESTALES

TESIS DOCTORAL

**USE OF DIFFERENT SOURCES OF FAT IN LACTATING CHURRA
EWE DIETS: EFFECTS ON ANIMAL PERFORMANCE AND
PRODUCT QUALITY**

**UTILIZACIÓN DE DIFERENTES FUENTES LIPÍDICAS
EN LA RACIÓN DE OVEJAS CHURRAS EN LACTACIÓN:
EFECTO SOBRE LOS RENDIMIENTOS Y CALIDAD DE LOS
PRODUCTOS**

Memoria presentada para aspirar al grado
de doctora por la Universidad de Valladolid

Fdo. Beatriz Gallardo García
9 Julio 2013



Universidad de Valladolid

Departamento de
Ciencias Agroforestales

AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

Los Dres. Dña. Teresa Manso Alonso y D. Ángel Ruiz Mantecón como directores de la Tesis Doctoral titulada "Use of different sources of fat in lactating Churra ewe diets: effects on animal performance and product quality (Utilización de diferentes fuentes lipídicas en la ración de ovejas Churras en lactación: efecto sobre los rendimientos y calidad de los productos " realizada por Dña. Beatriz Gallardo García en la Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias de la Universidad de Valladolid dentro del Doctorado en Investigación en Ingeniería para el Desarrollo Agroforestal, 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 9 de julio de 2013

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

Fdo. Dr. Ángel Ruiz Mantecón
Profesor de Investigación
CSIC

La autora de esta Tesis Doctoral ha disfrutado de un Contrato de Personal Investigador de Reciente Titulación Universitaria (Orden EDU/1933/2008) desde el 1 de junio de 2009 hasta el 31 de mayo de 2013, financiado por la Junta de Castilla y León, en el marco de la Estrategia regional de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación 2007-2013 y cofinanciado por el Fondo Social Europeo.

Este trabajo se ha realizado dentro de un Convenio de Colaboración entre la Universidad de Valladolid y la Diputación de Palencia y ha sido financiado por los siguientes proyectos de investigación:

- Proyecto de investigación: VA058A07
Título: Utilización de grasas de origen vegetal en raciones de ovejas churras sobre la calidad de la canal y de la grasa de los lechazos.
Entidad Financiadora: Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León.
Duración: 2007-2009
- Proyecto de investigación: RTA2010-0068-C02-02
Título: Aprovechamiento de residuos de la elaboración del vino ricos en compuestos fenólicos para alimentación del ganado ovino: efecto sobre la calidad de la carne de cordero y de lechazo.
Entidad Financiadora: Ministerio de Educación y Ciencia
Duración: 2010-2012

A mis padres,

a Cris

y a Hector.

Agradecimientos

Al terminar el presente trabajo me gustaría expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que han contribuido de una manera u otra a la realización del mismo.

En primer lugar, quiero agradecer a mis directores de tesis, Teresa y Angel, por haberme dado la oportunidad de trabajar en su grupo de investigación. Quiero agradecer a Teresa su continuo apoyo, sus acertadas orientaciones, su paciencia y todo lo que he aprendido de ella, no solo a nivel profesional sino personal.

De igual manera, muchas gracias “Cristimary” por mostrarte siempre dispuesta a ayudar, por tu apoyo personal en los momentos claves, por las risas, los lloros, los momentos de estrés, las carreras de sillas, las comidas, los viajes.....por todo mil gracias.

También quiero agradecer la financiación de la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León y el Fondo Social Europeo a través de la Ayuda a la Contratación de Personal Investigador de Reciente Titulación Universitaria de la que he sido beneficiaria desde el 1 de junio de 2009 al 31 de mayo de 2013. Además, la investigación no hubiera sido posible sin la colaboración de la Universidad de Valladolid y la Diputación de Palencia.

Deseo manifestar también mi gratitud al Instituto de Ganadería de Montaña de León, la Estación Tecnológica de la Carne de Guijuelo y al Instituto del Frío de Madrid, por las facilidades técnicas que han permitido que este proyecto salga adelante, así como a todas aquellas personas que de una forma u otra han colaborado.

Así también, al Dipartimento di Science Zootechniche Animal (Facoltà di Agraria) de la Università degli Studi di Sassari (Italia), por el trato y los conocimientos recibidos durante mi estancia predoctoral. En especial a la Doctora Anna Nudda por su colaboración y apoyo en esta tesis y a Maria Grazia, Grazie Mille!!!!

Para terminar, los agradecimientos mas importantes a mi familia, en especial a mis padres Santiago y M°Mar, a Cristina y a Hector, por haber estado siempre junto a mí, por su preocupación, cariño infinito, por inculcarme que todas las cosas con esfuerzo se consiguen y que rendirse a la primera no sirve de nada. Tambien me gustaría recordar a los que hoy no estan, mis abuelos y mi tio Victor y que me han ayudado a ser lo que hoy soy.

Muchas gracias a todos.

Índices y abreviaturas

Resumen	1
Abstract.....	6
I. Introducción General.....	11
II. Revisión bibliográfica.....	16
1. Alimentos funcionales	17
1.1. Qué son, cómo surgen y cómo están regulados.....	17
1.2. Componentes bioactivos.....	20
1.3. Lípidos y salud.....	20
1.3.1. Ácidos grasos saturados	21
1.3.2. Ácidos grasos monoinsaturados	22
1.3.3. Ácidos grasos <i>trans</i>	23
1.3.4. Ácidos grasos poliinsaturados	24
2. Leche de oveja.....	27
2.1. Composición de la grasa de la leche de oveja	28
2.2. Origen de la grasa y de los distintos ácidos grasos de la leche	30
2.2.1. Ácidos grasos saturados de cadena par	31
2.2.2. Ácidos grasos saturados de cadena impar y ramificados	32
2.2.3. Ácidos grasos monoinsaturados	33
2.2.4. Ácidos grasos poliinsaturados: CLA y PUFA n-3	35
2.3. Factores que influyen en la producción y composición de la grasa	39
2.3.1. Factores no nutritivos	39
2.3.1.1. Factores genéticos	39
2.3.1.2. Fase de lactación.....	41
2.3.1.3. Ordeño	42
2.3.2. Factores nutritivos	43
2.3.2.1. Forraje de la ración.....	43
2.3.2.2. Suplementación con grasas.....	46
3. Carne ovina.....	54
3.1. Canal y tipos comerciales	54
3.2. Cantidad y calidad de la grasa de la carne.....	56
3.3. Factores que influyen en la cantidad y calidad de la grasa de la carne de lechazo ...	63

3.3.1. Factores no nutritivos	63
3.3.1.1. Factores genéticos	63
3.3.1.2. Edad y peso.....	64
3.3.1.3. Sexo	66
3.3.1.4. Posición anatómica del depósito graso.....	66
3.3.2. Factores nutritivos	68
3.3.2.1. Lactancia natural vs. lactancia artificial	68
3.3.2.2. Empleo de antioxidantes en la carne ovina: vitamina E.....	73
III. Objetivos y planteamiento experimental	80
IV. Prueba 1: Effects of the olive and fish oil Ca soaps in ewe diets on milk fat and muscle and subcutaneous tissue fatty acid profiles of suckling lambs (Efecto de la suplementación con jabón cálcico de aceite de oliva y aceite de pescado sobre el perfil de ácidos grasos de la grasa de la leche y de la grasa intramuscular y subcutánea de los corderos lechales)	84
1. Resumen	85
2. Abstract.....	86
3. Introduction	87
4. Material and methods	89
4.1. Animal and experimental diets	89
4.2. Milk sampling and composition	90
4.3. Slaughter procedure and carcass sampling	91
4.4. Fatty acid analysis.....	91
4.5. Statistical analysis.....	91
5. Results and discussion	92
5.1. Milk yield and composition.....	92
5.2. Milk fatty acid composition.....	93
5.3. Milk fat depression (MFD).....	98
5.4. Lamb performance	99
5.5. Intramuscular and subcutaneous fatty acid composition.....	100
6. Conclusions	105
7. References	106

V. Prueba 2: Effects of extruded linseed supplementation of lactating ewes on the fatty acid profile of their suckling lambs (Efecto de la suplementación de la dieta de ovejas en lactación con semilla extrusionada de lino sobre el perfil de ácidos grasos de sus corderos lechales).....	108
1. Resumen	109
2. Abstract.....	110
3. Introduction	110
4. Material and methods	112
4.1. Animal and experimental diets	112
4.2. Milk sampling and composition	114
4.3. Slaughter procedure, carcass and meat measurements	114
4.4. Fatty acid analysis.....	115
4.5. Statistical analysis.....	115
5. Results	116
6. Discussion.....	124
6.1. Milk yield and composition.....	124
6.2. Milk fatty acid composition.....	124
6.3. Suckling lamb performance.....	127
6.4. Intramuscular and subcutaneous fatty acid composition.....	127
7. Conclusions	131
8. References	131
VI. Prueba 3: Effects of linseed oil and natural or synthetic vitamin E supplementation of lactating ewe diets on animal performance, fatty acid profiles and lipid oxidation of suckling lamb meat (Efecto de la suplementación de la dieta de las madres con aceite de linaza y vitamina E sintética o natural sobre los rendimientos productivos, el perfil de ácidos grasos y la oxidación de la carne de cordero lechal)	134
1. Resumen	135
2. Abstract.....	136
3. Introduction	138
4. Material and methods	140
4.1. Animal and experimental diets	140
4.2. Milk sampling and composition	141
4.3. Slaughter procedure, carcass and meat measurements	141

4.4. Chemical analysis	142
4.5. Statistical analysis.....	143
5. Results	144
6. Discussion.....	154
6.1. Animal performance	154
6.2. Milk fatty acid composition.....	155
6.3. Intramuscular fatty acid composition	158
6.4. Vitamin E, colour and lipid oxidation	160
7. Conclusions	162
8. References	163
VII. Discusión general.....	166
1. Rendimientos productivos	167
2. Perfil de ácidos grasos de la leche	171
2.1. Ácidos grasos saturados y <i>cis</i> -monoinsaturados	171
2.2. Ácidos grasos saturados intermediarios en los procesos de biohidrogenación ...	172
2.3. PUFA n-3.....	174
3. Perfil de ácidos grasos de la carne de los lechazos.....	186
VIII. Conclusiones.....	182
IX. Conclusions	185
X. Bibliografía.....	187

II. Revisión bibliográfica

Tabla 1.1. Efectos sobre la salud atribuidos a los ácidos grasos saturados (SFA)	22
Tabla 2.1 Composición físico-química media de la leche de vaca, cabra y oveja (%)	27
Tabla 2.2. Principales ácidos grasos (g/100 g total FA) de la grasa de la leche de vaca, cabra y oveja, de animales alimentados con prácticas similares	29
Tabla 2.3. Isómeros del ácido linoleico conjugado (% del total de CLA) de la grasa de la leche de oveja	30
Tabla 2.4. Contenido en grasa de la leche de algunas razas ovinas	40
Tabla 2.5. Efecto de diferentes fuentes de grasa sobre la cantidad y calidad de la grasa de la leche de ovejas en la fase intermedia de lactación.....	49
Tabla 3.1. Categorías comerciales de la carne de ovino en España	55
Tabla 3.2. Clasificación de las canales con pesos inferiores a 13 kg según el Reglamento (CEE) nº 2137/92.....	55
Tabla 3.3. Composición química media de la carne de diferentes especies.....	57
Tabla 3.4. Composición química del músculo Longissimus de los distintos tipos comerciales de corderos alimentados en condiciones similares	57
Tabla 3.5. Perfil de ácidos grasos (% total de ácidos grasos) de la carne de diferentes especies.....	59
Tabla 3.6. Intervalos de variación del perfil de ácidos grasos de la grasa de la leche de oveja y de los lacto-reemplazantes (% total de los ácidos grasos).....	69
Tabla 3.7. Perfil de FA de la grasa intramuscular de corderos lactantes alimentados con distintas fuentes de leche (natural o artificial).....	70

IV. Prueba 1

Table 1. Ingredients and chemical composition of the ewe experimental diets	90
Table 2. Average daily milk yield and composition of ewes fed diets supplemented with calcium soap of fatty acids of palm (Control), olive (OLI) and fish (FO) oil	92
Table 3. Ewe milk fatty acid profile fed diets supplemented with Ca soap of fatty acids of palm (control) olive (OLI) and fish (FO) oil	95
Table 4. Animal performance of lambs suckling milk from ewes receiving diets supplemented with Ca soap of fatty acids of palm (Control), olive (OLI) and fish (FO) oils.	99

Table 5. Fatty acid composition of intramuscular and subcutaneous fat from lambs suckling milk from ewes receiving diets supplemented with Ca soap fatty acids palm (control), olive (OLI) and fish (FO) oil.	101
 V. Prueba 2	
Table 1. Ingredients and chemical composition of the ewe experimental diets	113
Table 2. Milk production and chemical composition of milk	116
Table 3. Milk fatty acid profile.....	117
Table 4. Suckling lamb performance.....	119
Table 5. Mean effects of diet supplementation with extruded linseed (LIN) on intramuscular fat fatty acid profile of suckling lambs.....	120
Table 6. Mean effects of diet supplementation with extruded linseed (LIN) on subcutaneous fatty acid profile of suckling lambs.....	122
 VI. Prueba 3	
Table 1. Ingredients and chemical composition of the experimental diets	140
Table 2. Milk production and chemical composition of milk	144
Table 3. Animal performance, carcass characteristics and meat chemical composition of suckling lambs	145
Table 4. Milk fatty acid profile.....	146
Table 5. FA composition of intramuscular fat of lambs suckling from ewes receiving diets supplemented with or without linseed oil and with synthetic or natural vitamin E.	149
Table 6. Vitamin E concentrations in ewe milk and in intramuscular fat of suckling lambs.....	151

II. Revisión bibliográfica

Figura 2.1. Metabolismo celular de los ácidos grasos en la glándula mamaria	31
Figura 2.2. Rutas principales de biohidrogenación del <i>cis-9, cis-12</i> C18:2 en el rumen .	34
Figura 2.3. Rutas principales de biohidrogenación del <i>cis-9, cis-12, cis-15</i> C18:3 en el rumen	38
Figura 2.4. Evolución del contenido en grasa de la leche en ovejas Manchegas durante toda la lactación	41
Figura 3.1. Origen de algunos de los ácidos grasos presentes en la grasa intramuscular de la carne	61
Figura 3.2. Comparación del contenido de algunos FA de la grasa de la leche de oveja y cabra y en la grasa intramuscular de la carne de corderos y cabritos lactantes alimentados exclusivamente con leche materna	71

VI. Prueba 3

Figure 1. Effect of ewe treatments on the development of lightness, yellowness, redness and hue in suckling lamb <i>Longissimus dorsi</i> muscle samples stored at refrigerated display conditions for 12 days in polyethylene trays by an oxygen-permeable PVC film.	152
Figure 2. Effect of ewe treatments on the evolution of lipid oxidation during suckling lamb meat display time (TBARS)	153

VII. Discusión general

Figura 1. Contenido medio en la leche de VA y RA en la leche de las ovejas de los distintos tratamientos experimentales.....	173
Figura 2. Contenido medio en la leche de ALA, EPA, DPA y DHA en la leche de las ovejas de los distintos tratamientos experimentales	175
Figura 3. Contenido medio de ALA, EPA, DPA y DHA en la grasa intramuscular de los corderos lechales de los distintos tratamientos experimentales.....	179

AA: ácido araquidónico
AGS: enzima *ácido graso sintetasa*
ALA: ácido α -linolénico
BCFA: ácidos grasos de cadena ramificada
BW: peso corporal
CCW: peso canal fría
CHO: carbohidrato
CLA: ácido linoleico conjugado
CLnA: ácido rumelénico
CSFA: jabón cálcico de ácidos grasos
DHA: ácido docosahexanoico
DM: materia seca
DPA: ácido docosapentaenoico
EPA: ácido eicosapentaenoico
F/C: forraje/concentrado
FA: ácidos grasos
FOSHU: food for specified health use
HCW: peso canal caliente
HDL: lipoproteínas de alta densidad
IGP: indicación geográfica protegida
LA: ácido linoleico
LCFA: ácidos grasos de cadena larga
LDL: lipoproteínas de baja densidad
LPL: enzima *lipoproteína lipasa*
MCFA: ácidos grasos de cadena media
MDA: malonaldehído
MFD: síndrome de baja grasa en la leche
MG: marca de garantía
MUFA: ácidos grasos monoinsaturados
PUFA: ácidos grasos poliinsaturados
RA: ácido ruménico
REs: retículo endoplasmático
SCFA: ácidos grasos saturados de cadena corta

SFA: ácidos grasos saturados

TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

TFA: ácidos grasos *trans*

TMR: ración total mezclada

VA: ácido vacénico

Resumen

Los posibles efectos beneficiosos para la salud humana de algunos ácidos grasos con propiedades bioactivas, como es el caso del isómero *cis-9, trans-11* del ácido linoleico conjugado (CLA) y los PUFA n-3, han motivado un gran interés en el desarrollo de estrategias nutricionales que permitan aumentar su concentración en la leche y la carne de rumiantes.

La suplementación de la dieta con diferentes fuentes y niveles de grasa ha sido señalada como una estrategia para modificar la composición de la grasa de la leche de las ovejas en lactación, sin embargo son pocos los trabajos llevados a cabo en ovejas en inicio de lactación. Puesto que el perfil de ácidos grasos (FA) de la carne de los corderos lechales tiende a reflejar el perfil de FA de las madres, cambios en la composición de FA de la leche de las madres debidos a la dieta podrían cambiar el perfil de FA de la carne los corderos lechales.

El aumento en el contenido en ácidos grasos insaturados de la carne, debido a la suplementación de las dietas con grasas, aumenta su susceptibilidad a la oxidación, con los efectos negativos para la vida útil de la carne que ello conlleva. Trabajos previos han señalado que la suplementación con vitamina E de la dieta de los rumiantes podría evitar esta oxidación. Además, se ha señalado que la vitamina E podría modificar las rutas de biohidrogenación de los PUFA y por lo tanto el contenido en ácidos grasos intermediarios en la leche.

Este trabajo se llevó a cabo para estudiar la posibilidad de aumentar la calidad nutricional de la leche de oveja y la carne de cordero lechal. Se investigó el efecto que distintas fuentes de grasa y vitamina E en la ración de ovejas Churras en lactación tienen sobre el rendimiento animal y la calidad de la leche y de la carne, con especial atención a la composición en ácidos grasos. La parte experimental de la presente tesis se estructura en tres pruebas experimentales.

En la primera prueba experimental, una dieta para ovejas en inicio de lactación fue suplementada con grasas protegidas ricas en FA insaturados, para estudiar el efecto de esta estrategia nutricional sobre la composición de la grasa de la leche de oveja y por lo tanto en el músculo y en la grasa subcutánea de los corderos lechales que se alimentaron con esa leche. Treinta y seis ovejas Churras y sus respectivos corderos recién nacidos fueron asignados a una de las tres dietas experimentales (con una relación

forraje/concentrado 50:50) suplementadas con un 3% de jabón cálcico de FA de aceite de palma (Control), oliva (OLI) y pescado (FO). Los corderos se alimentaron exclusivamente de leche materna durante todo el período experimental. Cuando alcanzaron los 11 kg de peso vivo fueron sacrificados y se tomaron muestras del músculo *Longissimus dorsi* y de la grasa subcutánea. Aunque la producción de leche no fue afectada por el tipo de suplemento lipídico, la dieta FO disminuyó el contenido de grasa de la leche. El perfil de FA de la leche del tratamiento OLI fue similar al del tratamiento Control. En contraste, la dieta FO disminuyó drásticamente el contenido de los ácidos esteárico y oleico y aumentó el de todos los ácidos grasos saturados de cadena par desde el C16:0 al C14:0. El tratamiento FO registró también los mayores niveles de *cis-9, trans-11* C18:2 (RA) (2,21%) y de EPA (0,58%), DPA (0,48%) y DHA (0,40%). Los altos niveles de *trans-11* C18:1 (VA) (7,10%) conseguido con la dieta FO podría sugerir que los jabones cálcicos solo confieren una protección parcial a la grasa en el rumen. Por otro lado, la ausencia de diferencias en el nivel de *trans-10* C18:1 y de otros ácidos grasos *trans* entre los tratamientos Control y FO, podría ser una evidencia de que el tratamiento FO no altera, en la condiciones ensayadas, las rutas de biohidrogenación en el rumen. Cambios en el perfil de FA de la leche de las madres dieron lugar a diferencias en el perfil de FA de la carne y de los depósitos grasos de los respectivos corderos lechales sin afectar a los rendimientos productivos. En los corderos del tratamiento FO, todos los FA n-3 alcanzaron las mayores concentraciones: 0,97 (α -linolénico), 2,72 (EPA), 2,21 (DPA) y 1,53% (DHA). Además, no solo la grasa intramuscular de los corderos del tratamiento FO presentó el mayor contenido en RA, y VA sino que también la menor relación n-6/n-3 y no afectó al contenido de ácidos grasos saturados, por lo que mostró el mejor perfil de FA desde un punto de vista nutricional.

En la segunda prueba experimental, se evaluaron los efectos que la suplementación de las dietas de las ovejas en lactación con semilla extrusionada de lino tiene sobre el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular y subcutánea de los corderos lechales producidos, siguiendo para ello el mismo diseño y métodos utilizados que en la primera prueba experimental. Veinticuatro ovejas en gestación de raza Churra fueron divididas en dos grupos iguales y cada grupo fue asignado a uno de los dos tratamientos experimentales. Cada oveja del tratamiento Control fue suplementada con 70 g/día de FA de un jabón cálcico de aceite de palma, mientras que la dieta del otro tratamiento

(LIN) fue suplementada con 128 g/día de semilla extrusionada de lino. Todos los corderos se alimentaron exclusivamente de leche materna y fueron sacrificados cuando alcanzaron el peso vivo de 11 kg. Los rendimientos productivos de los corderos no fueron afectados por los tratamientos y la grasa de la canal del tratamiento LIN mostró mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). El porcentaje de los ácidos α -linolénico (C18:3 n-3), docosahexanoico (C22:6 n-3), VA y RA fueron mayores en los corderos lechales del tratamiento LIN. Además, la grasa de la carne de la canal del tratamiento LIN mostró una menor relación n-6/n-3 que las muestras del tratamiento Control. La grasa intramuscular mostró claramente un mayor contenido en PUFA, incluyendo RA y una menor relación n-6/n-3 que la grasa subcutánea. Esta investigación confirma que la suplementación de la dieta de ovejas en lactación con semilla extrusionada de lino mejora la calidad nutricional de los depósitos grasos de la canal de los corderos lechales producidos.

Tras haber finalizado los trabajos con OLI, FO y LIN, se llevo a cabo un último experimento con el objetivo de estudiar el efecto de la suplementación de la dieta con aceite de linaza y vitamina E, sintética o natural, sobre la composición de la grasa de la leche de las ovejas y la grasa intramuscular de los corderos lechales y sobre el color y la oxidación lipídica de la carne. Cuarenta y ocho ovejas con sus respectivos corderos recién nacidos fueron divididos y asignados a uno de las cuatro dietas experimentales. Las dietas experimentales fueron: Control (Control, sin grasa añadida), LO (con un 3% de aceite de linaza), LO-Syn E (LO más 400 mg/kg TMR de vitamina E sintética) y LO-Nat E (LO más 400 mg/kg TMR de vitamina E natural). Todos los corderos se alimentaron exclusivamente de leche materna y fueron sacrificados cuando alcanzaron los 12 kg de peso vivo y se tomaron muestras del músculo *Longissimus dorsi*. La producción de leche y el porcentaje de proteína no fueron afectados por la dietas con aceite de linaza comparadas con la dieta Control, mientras que el porcentaje de grasa de la leche aumentó en las ovejas alimentadas con aceite de linaza y vitamina E. La leche de los tratamientos LO, LO-Syn E y LO-Nat E presentó un porcentaje menor de FA saturados y un mayor porcentaje de FA monoinsaturados y PUFA que las ovejas alimentadas con la dieta Control. La suplementación con aceite de linaza, aumentó el contenido en VA, *trans-10* C18:1, RA, *trans-10*, *cis-12* C18:2 y C18:3 n-3 en la grasa de la leche comparado con el tratamiento Control. La suplementación de la dieta LO con vitamina E no influyó significativamente en la mayoría de los ácidos grasos

comparado con la dieta LO. El tratamiento LO-Syn E mostró mayores porcentajes de RA y *trans-10, cis-12* C18:2 que los tratamientos LO-Nat E y Control. El perfil de FA de la carne de los corderos lechales fue similar al de la leche que consumieron, sin afectar a los rendimientos productivos. El contenido en *trans-10* C18:1, VA, RA, *trans-10, cis-12* C18:2 y C18:3 n-3 fue mayor en la grasa intramuscular de los corderos de los tratamientos con aceite de linaza, sin embargo, no hubo diferencias significativas en estos FA debidas ni a la suplementación con vitamina E ni al tipo de vitamina E suplementada (sintética o natural). Debido al bajo contenido de grasa en la carne, los tratamientos suplementados con vitamina E mostraron mayores valores de EPA, DPA y DHA y los niveles fueron mayores cuando el tipo de vitamina E suplementada fue sintética, probablemente debido a la mayor proporción de fosfolípidos. La suplementación de la dieta de las ovejas con vitamina E aumentó el nivel de vitamina E en la leche y en la carne. Los tratamientos con vitamina E (LO-Syn E and LO-Nat E) mantuvieron el nivel de oxidación constante y por debajo del límite de aceptabilidad de la carne de cordero. Como conclusión, el uso de aceite de linaza en la ración de ovejas al inicio de lactación aumento el contenido en ácidos grasos saludables como VA, RA y ALA en la leche y en la carne, y el uso de vitamina E mostró un efecto limitado sobre el perfil de FA de la carne y de la leche, pero un efecto claro sobre el color y la oxidación de la carne de cordero lechal.

Por último, esta memoria incluye una discusión general que integral las tres pruebas experimentales.

Abstract

Because of their potential benefits to human health, a great deal of interest has been shown in developing nutritional strategies for enhancing the concentrations of some bioactive fatty acids, such as *cis-9, trans-11* conjugated linoleic acid (CLA) and n-3 PUFA in ruminant milk and meat.

Diet supplementation with different sources and levels of unsaturated fats has been reported to modulate milk fat composition in lactating ewes, but very few studies have examined the effects in early lactating ewes. As the fatty acid (FA) profile of suckling lamb meat tends to reflect the FA profile of their mother's milk, changing the FA composition of the dam's milk by diet could also change the FA profile of the suckling lamb's meat.

Increasing the content of unsaturated fatty acids in meat, by supplementing the diets with fats, increases meat susceptibility to oxidation which in turn negatively affects meat shelf life. Previous reports have shown that the addition of vitamin E in ruminant diets could prevent this oxidation. Furthermore, vitamin E could modify PUFA biohydrogenation pathways and thereby change the content of biohydrogenation intermediates in the milk.

The aim of this work was to study the possibility of enhancing the nutritive quality of ewe milk and suckling lamb meat. The effects of supplementing lactating Churra ewe diets with fat and vitamin E from different sources on animal performance and milk and meat quality, with special reference to fatty acid composition were investigated. The experimental part of the present thesis consists of 3 experiments designed to meet these objectives.

In the first experiment, a diet formulated for early lactating ewes was supplemented with protected lipids rich in unsaturated FA, in order to evaluate the impact of these nutritional strategies on the lipid composition of the ewe milk, and subsequently on the muscle and subcutaneous adipose tissues of lambs suckling such milk. Thirty-six pregnant Churra ewes with their new-born lambs were assigned to one of three experimental diets (forage/concentrate ratio 50:50), each supplemented with either 3% Ca soap FA of palm (Control), olive (OLI) or fish (FO) oil. The lambs were nourished exclusively by suckling for the whole experimental period. When the lambs reached 11 kg BW they were slaughtered and samples were taken from *Longissimus dorsi* muscle

and subcutaneous fat depots. Although milk production was not affected by lipid supplementation, the FO diet decreased fat content. The OLI milk FA profile resembled the Control milk FA profile. In contrast, although FO drastically diminished the contents of stearic and oleic acids, all the FA from C6:0 to C14:0 increased. FO also produced the highest levels of *cis*-9, *trans*-11 C18:2 (RA) (2.21%) and EPA (0.58%), DPA (0.48%) and DHA (0.40%). The high levels of *trans*-11 C18:1 (VA) (7.10%) obtained with the FO diet would suggest that Ca soaps only confer partial protection in the rumen. On the other hand, the lack of difference between Control and FO treatments of *trans*-10 C18:1 levels and other *trans* FA would indicate that FO treatment does not alter rumen biohydrogenation pathways under the assayed conditions. Changes in dam milk FA composition induced differences in the FA profiles of meat and fat depots of their suckling lambs without affecting lamb performance. In the intramuscular fat of the FO treatment, all the n-3 FA reached their highest concentration percentages: α -linolenic acid 0.97, EPA 2.72, DPA 2.21 and DHA 1.53. Additionally, not only did FO intramuscular fat have the most RA and VA, but it also had the lowest n-6/n-3 ratio without affecting the saturated FA content. Therefore, the FO diet exhibited the best FA profile from a nutritional point of view.

In the second experiment, the effects of supplementing lactating ewe diets with extruded linseed on the fatty acid composition of intramuscular and subcutaneous fat depots of suckling lambs were evaluated, following the same experimental design and methods as in the previous experiment. Twenty-four pregnant Churra ewes were divided into two equal groups, each group assigned to one of two treatments. Each ewe of the Control treatment was supplemented with 70 g/day of FA from a calcium soap of palm oil, while the diet of the other treatment group (LIN) was supplemented with 128 g/day of extruded linseed. All lambs were reared exclusively on milk and were slaughtered when they reached 11 kg live weight. Lamb performance was not affected by the treatments and carcass fat from the LIN treatment showed higher proportions of polyunsaturated fatty acids (PUFA). The percentages of α -linolenic acid (C18:3 n-3), docosahexaenoic (C22:6 n-3), VA and RA were higher in LIN suckling lambs. Furthermore, meat fat from LIN carcasses displayed a lower n-6/n-3 ratio than Control samples. Intramuscular depots clearly showed a greater content of PUFA, including RA, and a lower n-6/n-3 ratio than subcutaneous fat. The foregoing confirms that dietary

extruded linseed supplementation of lactating ewes enhances the nutritional quality of suckling lamb carcass fat depots.

Once these studies with OLI, FO and LIN were completed, a final experiment was conducted to examine the effects of dietary linseed oil alone and with synthetic or natural vitamin E on the lipid composition of ewe milk, intramuscular suckling lamb fat and colour, as well as lipid oxidation of lamb meat. Forty-eight Churra ewes with their new-born lambs were divided and assigned to one of the four dietary treatments. The dietary treatments were: Control (Control, without added fat), LO (with 3% linseed oil), LO-Syn E (LO plus 400 mg/kg TMR of synthetic vitamin E) and LO-Nat E (LO plus 400 mg/kg TMR of natural vitamin E). All lambs were reared exclusively on dam milk, slaughtered when they reached 12 kg live weight and then samples were taken from the *Longissimus dorsi*. Milk yield and protein percentages were not affected by diets containing linseed oil compared with Control, whereas the milk fat percentage increased in dairy ewes fed linseed oil plus vitamin E. Milk from LO, LO-Syn E and LO-Nat E treatments had lower percentages of saturated fatty acids but higher percentages of monounsaturated FA and PUFA than ewes fed the Control diet. Linseed oil supplementation caused an increase in VA, *trans-10* C18:1, RA, *trans-10*, *cis-12* C18:2 and C18:3 n-3 in milk fat compared to the Control. Vitamin E addition to the LO diets did not influence the majority of milk fatty acids when compared with the LO diet. The LO-Syn E treatment resulted in higher percentages of RA and *trans-10*, *cis-12* C18:2 than LO-Nat E and Control treatments. The FA patterns of suckling lamb meat were similar to those for milk from their respective dams, without affecting lamb performance. *Trans-10* C18:1, VA, RA, *trans-10*, *cis-12* C18:2 and C18:3 n-3 levels were higher in intramuscular lamb fat from treatments with linseed oil. However, no statistically significant differences were observed in these FA due to vitamin E supplementation or the type of supplemented vitamin E (synthetic vs. natural). Because of the lower fat content of meat, treatments supplemented with vitamin E showed higher levels of EPA, DPA and DHA and these fatty acid levels were even higher when supplementation was with synthetic vitamin E, probably owing to the greater proportion of phospholipids. Supplementing ewe diets with vitamin E (LO vs. LO-Syn E and LO-Nat E) increased the vitamin E content in milk and in meat. Treatments with vitamin E (LO-Syn E and LO-Nat E) kept the lipid oxidation constant with values under the acceptability threshold for lamb meat. In conclusion, the use of linseed oil in lactating

ewe diets increases the content of healthy FA, like VA, RA and ALA in milk and meat, and although the use of vitamin E only had a limited effect on milk and meat fatty acid profiles, it clearly affected colour and lipid oxidation in suckling lamb meat.

Finally, the dissertation will include a General Discussion integrating all the experiments.

I. Introducción General

Tradicionalmente la producción animal ha estado basada principalmente en criterios productivistas sin prestar especial atención a la composición de los productos obtenidos. Sin embargo, en los últimos años, las evidencias científicas que relacionan la alimentación y la salud humana se han multiplicado y han dado lugar a una creciente demanda de alimentos que, además de ser seguros y aportar nutrientes, proporcionen beneficios extra para la salud y/o disminuyan el riesgo de enfermedad. Por ello, y como respuesta a esta demanda, se están realizando esfuerzos importantes de investigación orientados al desarrollo de estrategias de producción animal que permitan obtener, de forma natural, alimentos más atractivos para los consumidores en relación con la salud y, así, poder diversificar la producción, aumentar el valor añadido de los productos y contribuir a mejorar la rentabilidad de las explotaciones ganaderas.

La carne de cordero está considerada como un producto de gran calidad por su alto valor nutritivo y sus características organolépticas. Se trata de un producto tradicional y de gran arraigo social, cuyo consumo se ha visto reducido en los últimos años debido en parte, a la imagen negativa que tiene el consumidor de su alto contenido en grasa y en ácidos grasos saturados.

Sin embargo, la imagen negativa de la grasa de la carne de cordero ha ido cambiando, ya que se ha podido comprobar que algunos de los ácidos grasos saturados, característicos de los productos de los rumiantes, no presentan riesgo de enfermedad y que contiene otros ácidos grasos insaturados que son potencialmente beneficiosos para la salud humana. Entre estos ácidos grasos con propiedades bioactivas destacan algunos ácidos grasos monoinsaturados como el ácido oleico, el ácido vacénico y algunos ácidos grasos poliinsaturados como el ácido linoleico conjugado (CLA) y los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (PUFA n-3), por lo que existe un gran interés por aumentar sus niveles en la carne.

En los países mediterráneos, con gran tradición lechera, los corderos se sacrifican con 10-12 kg de peso vivo, reduciéndose su etapa productiva a la fase de lactancia. De hecho, en España, el sacrificio de corderos de tipo lechal representa en torno al 33% del total de ganado ovino sacrificado (Magrama, 2011). Esta producción, tradicional en Castilla y León, se genera en muchos casos a partir de explotaciones ovinas de razas autóctonas (Churra, Castellana y Ojalada) cuya aptitud productiva es de tipo mixto

(carne-leche). Los corderos lechales de estas razas se suelen comercializar bajo la figura de calidad “IGP Lechazo de Castilla y León” después de numerosos controles de calidad. En este sentido, y para un producto que ya presenta una gran calidad, la mejora de las características nutricionales y funcionales de la carne de cordero lechal resulta especialmente interesante.

La alimentación del ganado ovino es el factor con mayor influencia sobre la calidad de los productos, 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. En este sentido, la incorporación de grasas en las raciones, junto con las posibilidades que ofrece la biohidrogenación microbiana a nivel ruminal, han sido señaladas como métodos efectivos para cambiar el perfil de ácidos grasos e incrementar los niveles de ácidos grasos funcionales en la leche y, por consiguiente, en la grasa de los corderos lechales, siempre que se tenga en cuenta la importancia de las relaciones existentes entre el mantenimiento del rumen en condiciones óptimas, el metabolismo de los lípidos a nivel ruminal y la síntesis de grasa de la leche en la glándula mamaria.

En general, en corderos lactantes, al igual que ocurre en monogástricos, las grasas que ingieren no son modificadas de forma previa a la digestión y absorción como ocurre en rumiantes. Por lo tanto, si queremos incrementar los niveles de ácidos grasos funcionales en la grasa de los lechazos alimentados mediante lactancia natural, la leche de sus madres debe enriquecerse en estos ácidos grasos o sus precursores.

En numerosos estudios en ovejas en lactación se ha podido comprobar que, cuando se incorporan aceites vegetales con un alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados en la ración (linoleico y linolénico), se observan aumentos en el contenido en CLA de la grasa de la leche, ya que aumentan los precursores para la formación de *cis-9, trans-11* C18:2 (RA) y *trans-11* C18:1 (VA) en el rumen. Simultáneamente el ácido linoleico inhibe la reducción final de *trans* C18:1 a ácido esteárico, acumulándose en el rumen y originando una mayor disponibilidad de sustrato para la síntesis endógena de RA en la glándula mamaria.

Sin embargo, el alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados de las grasas puede interferir en los procesos ruminales, produciéndose reducciones en la síntesis de grasa de la leche en la glándula mamaria como consecuencia de cambios en las rutas de

biohidrogenación que favorecen la formación de *trans-10* C18:1 y *trans-10, cis-12* C18:2. Las modificaciones en la producción y composición de la leche pueden influir en el crecimiento y los rendimientos productivos de los corderos lechales.

Una forma de limitar la biohidrogenación ruminal y evitar los efectos negativos de las grasas es suministrarlas en forma de semillas en lugar de aceites libres, ya que la cubierta que poseen limita la accesibilidad de las bacterias ruminales a los lípidos. Estas semillas se pueden incorporar a las raciones enteras o procesadas (en forma extrusionada, micronizada, molida, calentada, etc...). Para aumentar en la leche o en la carne el contenido en algunos ácidos grasos beneficiosos para salud, como es el caso del ácido linoleico conjugado, la inclusión de semillas procesadas presenta mayor interés que las semillas enteras debido a que el procesado facilita la liberación de su aceite a nivel ruminal.

Otra forma de limitar la biohidrogenación de los ácidos grasos en los rumiantes, es el empleo de grasas protegidas en las raciones. El uso de jabones cálcicos de ácidos grasos es una de las formas más habituales de incorporación de grasas en raciones de rumiantes. Los jabones cálcicos se han asociado a limitaciones en el efecto tóxico que las grasas muy insaturadas provocan en los microorganismos del rumen y a reducciones en la proporción de ácidos grasos saturados y ácidos grasos *trans* en la leche y en la carne.

Los aceites marinos son fuentes lipídicas ricas en ácidos grasos poliinsaturados, sobre todo en PUFA n-3 de cadena larga. Estas grasas marinas mejoran los contenidos de CLA y PUFA n-3 de cadena larga en la leche, sin embargo, su ingesta ha sido relacionada en vacas lecheras con un descenso del contenido de grasa de la leche y con el aumento en el contenido de ácidos grasos *trans*.

Existen numerosos estudios en ovejas en la fase intermedia de lactación en los que se utilizan distintas fuentes de grasa altamente insaturadas con el fin de modificar el perfil de ácidos grasos de la leche, sin embargo, son muy escasos los estudios realizados con ovejas en inicio de lactación y orientados a mejorar el perfil de ácidos grasos tanto de la leche como de la carne de sus lechazos.

La hipótesis de partida de esta tesis doctoral es que por medio de la incorporación de distintas fuentes de grasa en las raciones del ganado ovino en inicio de lactación se

puede modificar la composición de la leche de oveja y repercutir en los rendimientos productivos y en la calidad de productos altamente apreciados en la comunidad de Castilla y León como es el cordero lechal. Así, el uso de grasas en raciones de ovejas podría permitir obtener carne de lechazo de mayor calidad y con alto valor añadido desde el punto de vista de la salud humana al dotarlos de propiedades más saludables por su posible enriquecimiento en ácidos grasos funcionales. Este aspecto resulta importante para poder incentivar el consumo de carne de cordero, aumentar su valor añadido y, por consiguiente, la rentabilidad de las explotaciones de ganado ovino.

Esta tesis doctoral, después de la revisión bibliográfica realizada y de la redacción de los objetivos y el planteamiento experimental, se estructura en tres capítulos de acuerdo con las pruebas experimentales planteadas. En cada uno de los capítulos, que se presentan en inglés, se incluye su resumen, introducción, material y métodos, resultados y discusión y conclusiones con el fin de adaptarlos a su publicación posterior. Es preciso señalar que, con el objetivo de facilitar la lectura, la metodología de cada prueba experimental se incluye en el capítulo correspondiente aunque en algunas ocasiones pueda resultar coincidente.

II. Revisión Bibliográfica

1. Alimentos funcionales

1.1. Qué son, cómo surgen y cómo están regulados

Uno de los problemas de la alimentación de la sociedad actual son las dietas ricas en azúcares y grasas saturadas y pobres en determinadas grasas insaturadas, minerales, vitaminas y fibras (WHO, 2003). Este hecho ha provocado que en los últimos años, haya aumentado considerablemente el interés tanto de los responsables de la salud pública como de los consumidores por conocer la relación entre los componentes de la dieta y las patologías de la nutrición (Decker y Park, 2010; Bhat y Bhat, 2011).

Como consecuencia de esta situación, el desarrollo de productos alimenticios que no sólo satisfagan el apetito, sino que promuevan el estado de bienestar, mejoren la salud y reduzcan el riesgo de determinadas enfermedades, presenta un gran interés. Como respuesta a este interés, han nacido los denominados alimentos funcionales, que son aquellos que, más allá de su valor nutricional habitual, han demostrado tener un efecto beneficioso sobre una o más funciones específicas al organismo, de forma que resulten relevantes para mejorar el estado de salud y bienestar y/o para la reducción del riesgo de enfermedad (Diplock et al., 1999).

No existe un acuerdo general sobre la definición de alimentos funcionales. En Europa se acepta la definición propuesta por Robertfroid (1996), en la que un alimento es funcional si contiene un componente alimenticio (sea un nutriente o no) con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, cuyos efectos positivos justifiquen que pueda reivindicarse como funcional (fisiológico) o incluso saludable. La Academia Nacional de Ciencia de los Estados Unidos ha definido los alimentos funcionales como cualquier alimento o ingrediente alimenticio modificado, que pueda proporcionar un beneficio a la salud superior al de los nutrientes tradicionales que contiene (Thomas y Eart, 1994).

El concepto de alimentos funcionales nació en Japón. El Dr. Minoru Shirota ya en la década de los años 30 inició en Japón la investigación y desarrollo de una leche fermentada, con fines de prevención de enfermedades gastrointestinales. Fue en los años 80, cuando las autoridades japonesas se dieron cuenta de que para controlar los gastos sanitarios, generados por la mayor esperanza de vida de la población anciana, había que garantizar también una mejor calidad de vida. Para ello se introdujo un nuevo concepto

de alimentos que se desarrollaron específicamente para mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer enfermedades. En 1991, en Japón se estableció el concepto de “Alimentos para uso específico en la salud” (Food for Specified Health Use, FOSHU) (Shimizu, 2003). Los alimentos que se encuentran dentro de esta categoría FOSHU deben ser autorizados por el Ministerio de Salud, tras la presentación de pruebas exhaustivas con fundamento científico, que apoyen la alegación relativa a las propiedades de dichos alimentos cuando son consumidos en una dieta ordinaria (Cortés et al., 2005). El sistema FOSHU describe once categorías de ingredientes con actividad fisiológica: fibras alimentarias, oligosacáridos, alcoholes derivados de azúcares, ácidos grasos poliinsaturados, péptidos y proteínas, glucósidos, isoprenoides y vitaminas, alcoholes y fenoles, colinas (lecitina), bacterias del ácido láctico y minerales.

Los alimentos funcionales en Europa empezaron a cobrar importancia en los años 90, mientras que en Japón, EEUU y Canadá el consumo de estos productos gozaba ya de gran popularidad. Debido a este interés por los alimentos funcionales la Unión Europea creó la Comisión Europea de Acción Concertada sobre Bromatología Funcional en Europa en 1998 (Functional Food Science in Europe, FUFOSSE). El programa ha sido coordinado por el Instituto Internacional de Ciencias Biológicas (International Life Sciences Institute, ILSI) y patrocinado por la Comisión Europea como Acción Concertada dentro del 4º Programa Marco de Investigación. Su objetivo ha sido desarrollar y establecer un enfoque científico sobre las pruebas que se necesitan para respaldar el desarrollo de productos alimenticios que puedan tener un efecto beneficioso sobre una función fisiológica del cuerpo y mejorar el estado de salud y bienestar de un individuo y/o reducir el riesgo de que desarrollen enfermedades.

El 1 de enero de 2007 entró en vigor el Reglamento (CE) nº 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo de 20 de diciembre de 2006, que se comenzó a aplicar en julio de dicho año, relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables de los alimentos, y que regula la publicidad y el etiquetado de los alimentos funcionales en Europa. Este reglamento establece las normas por las que deberá regirse la industria alimentaria para poder afirmar que un alimento aporta determinadas propiedades saludables. Posteriormente, el reglamento fue modificado por el Reglamento (CE) nº 107/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo de 15 de enero de 2008, por el Reglamento (CE) nº 109/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo de 15

de enero de 2008 y por el Reglamento (UE) nº 116/2010 de la Comisión de 9 de febrero de 2010.

El Reglamento europeo nº 1924/2006 solo autoriza las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables de los alimentos si se cumplen las siguientes condiciones:

- haberse demostrado que la presencia, ausencia o contenido reducido, en un alimento o una categoría de alimentos, de un nutriente u otra sustancia respecto del cual se efectúa la declaración, posea un efecto nutricional o fisiológico beneficioso, establecido mediante datos científicos aceptados.
- que el nutriente u otra sustancia acerca de la cual se efectúa la declaración este contenido en el producto final en una cantidad significativa, no esté presente o esté presente en una cantidad reducida que produzca el efecto nutricional o fisiológico declarado.
- que el nutriente u otra sustancia acerca de la cual se efectúa la declaración se encuentre en una forma asimilable por el organismo.
- que la cantidad del producto que cabe razonablemente esperar que se consuma proporcione una cantidad significativa del nutriente u otra sustancia a la que hace referencia la declaración.
- que las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables hagan referencia a los alimentos listos para su consumo de conformidad con las instrucciones del fabricante.

Los cambios en la dieta de los consumidores, en los estilos de vida, en la conciencia e interés en la salud están impulsando el crecimiento del sector de los alimentos funcionales. Se ha pasado en el año 2000 de una facturación mundial de alimentos funcionales de 33 billones de dólares a 61 billones de dólares en el año 2008, de acuerdo con los datos publicados por Leatherhead Food Research en 2010. Según estos datos, Japón y Estados Unidos están a la cabeza del mercado mundial de alimentos funcionales.

Alemania, Francia, Reino Unido y Holanda son los países europeos a la cabeza de la producción de alimentos funcionales (Annunziata y Vecchio, 2011). Actualmente España es también uno de los países fuertes en dicho mercado. En el año 2006 el mercado de los alimentos funcionales en España representó aproximadamente un 17%

del total del mercado alimentario, además, se ha estimado que para el año 2020 alcanzará la cifra del 40% del total del mercado alimentario español (Monár, 2007).

1.2. Componentes bioactivos

Se considera componente bioactivo de un alimento aquel compuesto químico que aporta beneficios para la salud más allá de los considerados como nutrición básica. El alimento que contiene niveles significativos de estos componentes bioactivos se ha definido como alimento funcional. Estos componentes se encuentran, en general, en pequeñas cantidades en alimentos de origen vegetal o animal. Para que un componente de la dieta sea considerado como bioactivo debe tener un efecto biológico medible, a una concentración fisiológica razonable (Schrezenmeir et al., 2000).

En los últimos años se han demostrado los efectos beneficiosos que tienen los distintos compuestos bioactivos de origen natural presentes en los alimentos sobre las enfermedades crónicas de mayor incidencia en los países desarrollados (enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas, procesos inflamatorios y cáncer) (Muñoz et al., 2010).

Aunque la mayoría de estas sustancias beneficiosas para la salud tienen un origen vegetal (carotenoides, fitoesteroles, fenoles y derivados, vitamina C, vitamina E, ácidos grasos poliinsaturados), algunos de los alimentos de origen animal cuentan también con cantidades minoritarias de compuestos bioactivos, como es el caso del ácido linoleico conjugado (CLA), ácidos grasos poliinsaturados n-3 (PUFA n-3) y vitamina E, a los que se atribuyen también beneficiosos para la salud (Shahidi, 2002).

A continuación detallaremos con mayor precisión los efectos de los componentes bioactivos de interés en la presente tesis doctoral.

1.3. Lípidos y salud

Desde hace años, la grasa de la dieta es uno de los principios inmediatos que mayor atención ha recibido por parte de la comunidad científica, de los responsables de la salud y de los consumidores. Es un nutriente esencial e imprescindible para el buen funcionamiento del organismo, por su función energética, por ser regulador de la función celular, por suministrar ácidos grasos esenciales y ser el vehículo de vitaminas liposolubles, y además, por los potenciales efectos que a largo plazo tiene sobre la salud

humana, ya sean beneficiosos o perjudiciales (Mesa et al., 2005). Distintos estudios científicos han demostrado que la relación entre la salud y la ingestión de grasa no depende tanto de su cantidad, sino de su calidad, es decir del tipo de ácido graso predominante en la dieta (Carrillo Fernández et al., 2011). Mattson y Grundy (1985) sugirieron que los ácidos grasos saturados (SFA) incrementan el contenido total de colesterol (lipoproteínas de baja densidad, LDL y lipoproteínas de alta densidad, HDL) mientras que los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) lo disminuyen, y que los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) disminuyen el contenido de colesterol LDL, sin modificar o aumentar la fracción HDL del colesterol. Niveles elevados en el plasma de la lipoproteína LDL están relacionados con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, sin embargo la lipoproteína HDL esta considerada como un factor antiaterogénico (Williams, 2012).

1.3.1. Ácidos grasos saturados

Los SFA de la dieta suministran energía, son componentes estructurales de las membranas de las células y proporcionan la textura y la palatabilidad deseada de los alimentos. Se encuentran principalmente en los alimentos de origen animal (carne y productos lácteos) y en ciertas grasas vegetales (aceite de palma, coco) (Mesa et al., 2005).

El pilar central de las recomendaciones dietéticas internacionales para reducir el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares es la disminución de la ingestión de ácidos grasos saturados (Micha y Mozaffarian, 2010) y así reducir el colesterol LDL. Waters (2010) ha estimado que por cada mmol/l (aproximadamente 40g/dl) de colesterol LDL reducido en sangre, se reduce de un 20% a un 5% el riesgo de enfermedad cardiovascular. Sin embargo, hay otros autores (Siri-Tarino et al., 2010) que sugieren que la ingestión de SFA no se asocia con un incremento del riesgo cardiovascular. Esta relación, sin embargo, es mucho más compleja ya que los efectos beneficiosos que sobre la salud tiene la disminución del consumo de SFA no dependen únicamente de su consumo, sino de si el nutriente por el que se reemplazan los SFA son carbohidratos (CHO), MUFA o PUFA (Micha y Mozaffarian, 2010). El consumo de PUFA en lugar de SFA está asociado con un menor riesgo cardiovascular, mientras que el consumo de CHO y MUFA en lugar de SFA está asociado con un aumento o una tendencia hacia el aumento del riesgo cardiovascular. Los efectos beneficiosos de la

disminución del consumo de SFA dependen, en segundo lugar, de la longitud de la cadena del ácido graso saturado, ya que como se puede observar en la Tabla 1.1. hay determinados SFA relacionados con efectos beneficiosos sobre la salud.

Tabla 1.1. Efectos sobre la salud atribuidos a los ácidos grasos saturados (SFA)

Ácido Graso Saturado	Efecto sobre la salud	Referencia
C4:0	<ul style="list-style-type: none"> • Anticancerígeno, inhibe el crecimiento y diferenciación de células tumorales prostáticas, mamarias y del colon 	Williams et al., 2003; Parodi et al., 2009a; Maier et al., 2000; Wolter y Stein, 2002
C6:0, C8:0, C10:0	<ul style="list-style-type: none"> • Antiviral, antimicrobiano 	German y Dillard, 2006
SCFA	<ul style="list-style-type: none"> • Aporte de energía y baja tendencia a acumularse en el tejido adiposo • No tiene efectos sobre el nivel de colesterol en sangre 	Molkentin, 2000 Parodi, 2004
C12:0, C14:0, C16:0	<ul style="list-style-type: none"> • Aumenta el colesterol en sangre 	Bhat y Bhat, 2011; Legrand, 2008
<i>iso</i> C15:0, <i>iso</i> C16:0	<ul style="list-style-type: none"> • Anticancerígenos 	Vlaeminck et al., 2006; Yang et al., 2000
C18:0	<ul style="list-style-type: none"> • Reducir colesterol LDL • Neutro 	Hunter et al., 2010 ; Mensink, 2005 Juárez y Fontecha, 2009

SCFA: ácidos grasos saturados de cadena corta

1.3.2. Ácidos grasos monoinsaturados

Estudios científicos llevados a cabo durante años sugieren que los MUFA previenen o reducen los factores de riesgo del síndrome metabólico (conjunto de trastornos metabólicos que se producen en un individuo y que se asocian con un mayor riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 y enfermedades cardiovasculares), regulando favorablemente los lípidos en sangre, la presión arterial y la sensibilidad a la insulina (Kris-Etherton, 1999; Ros, 2003).

Los MUFA en la dieta como sustitutivos de los SFA, en comparación con los CHO, son más eficaces en el mantenimiento de los niveles del colesterol HDL, bajando los niveles de triglicéridos y mejorando la sensibilidad a la insulina. En comparación con los PUFA, los MUFA generan una pequeña disminución o mantienen niveles similares de colesterol LDL plasmático y disminuyen los efectos sobre el colesterol total

(Gillingham et al., 2011). Mente et al. (2009) sugieren que una dieta rica en MUFA está relacionada con una reducción del riesgo cardiovascular del 20%.

Los ácidos grasos monoinsaturados mayoritarios en el tejido adiposo humano son el ácido palmitoleico (C16:1 n-7) y el ácido oleico (C18:1 n-9), ambos con una configuración *cis* (Gong et al., 2011). El ácido oleico se caracteriza por sus efectos beneficiosos sobre la salud cardiovascular y hepática (Jackson et al., 2005; López-Miranda et al., 2008). Según un estudio llevado a cabo en el Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital Universitario Carlos Haya de Málaga, el ácido oleico desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de un peso corporal saludable, ya que interviene en la regulación del metabolismo de lípidos y en el equilibrio del peso corporal (Rojo et al., 2005).

1.3.3. Ácidos grasos *trans*

La Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) define los ácidos grasos *trans* como todos aquellos ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados que tengan al menos un doble enlace en configuración *trans* (EFSA, 2005).

En los productos alimenticios hidrogenados parcialmente de forma artificial a partir de aceites vegetales, los ácidos grasos *trans* (TFA) generados pueden llegar a superar el 50% del total de los ácidos grasos, habiéndose demostrado que en conjunto aumentan el riesgo de enfermedades coronarias, al aumentar el colesterol LDL (Carrillo Fernández et al., 2011) y los marcadores plasmáticos de la inflamación y la disfunción endotelial (Lopez-García et al., 2005). Por todo esto las organizaciones profesionales de la salud recomiendan que la ingesta de estos TFA provenientes de fuentes industriales sea lo más baja posible (Hunter et al., 2011). Sin embargo, en los productos derivados de los rumiantes (leche o carne), el contenido en TFA naturales, generados en los procesos de biohidrogenación en el rumen, representa aproximadamente el 5% del total de los ácidos grasos (EFSA, 2009). Uauy et al. (2009) sugieren que la falta de evidencias que relacionan estos ácidos grasos *trans* presentes en la carne y la leche de rumiantes con el riesgo cardiovascular, podría ser debida a las escasas cantidades que habitualmente se consumen (alrededor del 0,7% del total de la energía consumida).

Los isómeros *trans*-monoeno octadecanoicos (*trans* C18:1) más comunes son el ácido vacénico (*trans*-11 C18:1, n-7), el más abundante en la grasa de los rumiantes, y

el ácido eláidico (*trans-9* C18:1, n-9), mayoritario en los aceites vegetales parcialmente hidrogenados. El ácido vacénico (VA) es el precursor fisiológico del *cis-9, trans-11* C18:2 (ácido ruménico, RA) en la grasa de los rumiantes (carne y leche), y ambos están relacionados con potenciales efectos beneficiosos para la salud (Shingfield et al., 2008). El ácido eláidico se ha encontrado en las lesiones ateroscleróticas y en el tejido adiposo de pacientes obesos y con afecciones cardíacas (Stachowscha et al., 2004; Basset et al., 2010). Por otro lado, el ácido *trans-10* C18:1, relativamente abundante en las grasas de origen industrial, puede contribuir a aumentar el riesgo de enfermedad cardiovascular (Roy et al., 2007). En definitiva, la fuente y la configuración de los TFA podría influir en el papel (beneficioso o perjudicial) que tienen sobre la salud cardiovascular (Gebauer et al., 2007).

1.3.4. Ácidos grasos poliinsaturados

Dentro de los ácidos grasos poliinsaturados hay que destacar dos, considerados como ácidos grasos esenciales, por no poder ser sintetizados por el organismo y tener que ser obtenidos de la dieta, son el ácido linoléico (C18:2 n-6, LA) y el ácido α -linolénico (C18:3 n-3, ALA). Una vez ingeridos pueden ser alongados dando lugar a PUFA de cadena más larga y de gran importancia biológica al igual que sus precursores.

El ácido linoleico conjugado (CLA) es una mezcla de isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico, que se encuentra de forma predominante en los productos derivados de rumiantes (leche y carne). La grasa de la leche es la fuente natural más rica en CLA, siendo el ácido ruménico (*cis-9 trans-11* C18:2, RA) el isómero mayoritario, representando más del 90% del total del CLA (Parodi, 2009b).

Durante las dos últimas décadas numerosos estudios llevados a cabo *in vivo* e *in vitro* en animales, han demostrado las propiedades anticarcinogénicas, antidiabéticas, antiadipogénicas, inmunomoduladoras y favorecedoras del crecimiento de los huesos que tiene el CLA (Pariza et al., 2001; Wahle et al., 2004; Park y Pariza, 2007; Turpeinen et al., 2008). Estas propiedades biológicas no pueden ser explicadas por un solo mecanismo biológico o por la actividad de un solo isómero (Benjamin y Spener, 2009). Aunque los trabajos sobre el efecto del CLA en humanos son más limitados, un reciente estudio prospectivo sugiere que una ingesta elevada de CLA mediante el

consumo de productos lácteos con alto contenido en grasa, puede reducir el riesgo de cáncer de colon-rectal (Larsson et al., 2005).

El isómero *trans*-10, *cis*-12 C18:2 ha alcanzado gran relevancia por promover pérdidas de peso corporal (Bhattacharya et al., 2006). Son muchos los posibles mecanismos metabólicos implicados en esta actividad adipogénica del CLA. Se ha sugerido que el CLA aumenta la β -oxidación celular (Keim, 2003), reduce la proliferación y diferenciación de preadipocitos (Brodie et al., 1999) y es capaz de modular la producción de enzimas que intervienen en el metabolismo de los ácidos grasos (Park et al., 1999). El isómero *trans*-10, *cis*-12 C18:2 es más eficaz como agente adipogénico que el RA (Declercq et al., 2010). Sin embargo, el papel de este isómero no parece ser tan positivo para los indicadores plasmáticos de enfermedades cardiovasculares, ya que aumenta el colesterol LDL y los niveles de triglicéridos (Tricon et al., 2004). Además un estudio llevado a cabo en Suecia sugiere que el *trans*-10, *cis*-12 C18:2 favorece la carcinogénesis del colon más que inhibirla (Rajakangas et al., 2003).

Otros estudios han observado el potente efecto inhibitorio que sobre el crecimiento de las células del colon tiene el isómero *trans*-9, *trans*-11 C18:2 (Beppo et al., 2006). El *cis*-9, *cis*-11 C18:2 ha sido ensayado en cultivos celulares de cáncer de mama y parece comportarse como un agente bloqueador del estrógeno humano (Tanmahasamut et al., 2004).

Existe un reconocimiento cada vez mayor de los beneficios que para la salud tienen los PUFA en general y los PUFA n-3 en particular, ya que estos ácidos grasos son esenciales en la nutrición humana (Kouba y Mourot, 2011). En este grupo de ácidos grasos se incluyen el ácido α -linolénico (C18:3 n-3, ALA), ácido eicosapentaenoico (C20:5, EPA), ácido docosapentaenoico (C22:5; DPA) y ácido docosahexaenoico (C22:6, DHA).

La necesidad de estos PUFA n-3 durante el embarazo para el crecimiento fetal y el desarrollo neurológico ha sido ampliamente estudiada (Meyer, 2011). El DHA es el lípido estructural del cerebro y del tejido de la retina (Harris et al., 2008), y de ahí su importancia en las primeras etapas de la vida, para la correcta formación del feto. La Sociedad Internacional para el Estudio de los Ácidos Grasos y los Lípidos (ISSFAL,

2004) recomienda un consumo diario de 200 mg de DHA durante el embarazo y la lactancia.

Los PUFA n-3 presentan efectos beneficiosos asociados a la regulación de las enfermedades inflamatorias crónicas, la disminución de los triglicéridos en sangre, la muerte cardiovascular súbita, la depresión, la artritis y el control de las arritmias cardíacas (Bover et al., 2006; Harris, 2007; Appleton et al., 2010; Larsen et al., 2011). Además, distintos estudios han demostrado que los PUFA n-3 pueden retrasar la aparición de distintos tumores e inhibir la tasa de crecimiento de los mismos (Funahashi et al., 2006; Kim et al., 2009; Spencer et al., 2009). Estudios epidemiológicos y preclínicos sugieren que el DHA puede proteger contra la demencia, el Alzheimer y la degeneración macular (Schaefer et al., 2006; Cole y Frautschy, 2010).

El consumo de EPA y DHA ha sido asociado con efectos beneficiosos sobre la salud cardiovascular, sin embargo estos efectos varían con el tipo de PUFA n-3. Mientras que EPA y DHA disminuyen los niveles de triglicéridos en sangre, sólo el DHA parece aumentar el colesterol HDL, además de ser más eficiente en la disminución de la presión arterial, frecuencia cardíaca y la agregación plaquetaria en comparación con el EPA (Cottin et al., 2011). De los resultados obtenidos de un estudio *in vitro* con conejos se concluye que el DHA es el PUFA n-3 que inhibe de manera más eficiente la agregación plaquetaria y por lo tanto la formación de trombos (Akiba et al., 2000). En un estudio *in vitro* realizado en humanos, el DHA fue igual de efectivo que el EPA y DHA en inhibir la agregación plaquetaria en mujeres, sin embargo, en hombres sólo el EPA la inhibió (Phang et al., 2008).

La mayoría de los países y organizaciones de la salud recomiendan un consumo de aproximadamente 500 mg de EPA y DHA al día, para una buena salud y reducir el riesgo de enfermedad crónica y enfermedad cardiovascular (Meyer, 2011). Las recomendaciones para una dieta saludable sugieren una relación entre los ácidos grasos n-6/n-3 de la dieta menor de 5 (Wood et al., 2003; Kouba y Mourot, 2011).

La fuente principal de PUFA n-3 es el pescado y otros productos marinos. Sin embargo, hay muchas otras fuentes alternativas de alimentos ricos en PUFA de cadena larga, donde se incluyen carne, leche y huevos de animales alimentados con dietas enriquecidas con PUFA n-3 (Simopoulos, 1999), lo cual podría resultar de interés si se

pretende desarrollar estrategias de alimentación relacionadas con la mejora de la calidad nutricional y funcional de los productos de rumiantes.

2. Leche de oveja

Según el código alimentario español (Decreto 2484/1967 de 21 de septiembre) se entiende por leche natural el producto integro, no alterado ni adulterado y sin calostro, del ordeño higiénico, regular, completo e ininterrumpido de las hembras mamíferas sanas y bien alimentadas. Con la denominación genérica de leche se comprende única y exclusivamente la leche de vaca. La leche producida por otras hembras de animales domésticos se designan indicando además el nombre de la especie correspondiente: leche de oveja, leche de cabra, leche de burra, leche de yegua y leche de camella.

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

Tabla 2.1. Composición fisico-química media de la leche de vaca, cabra y oveja (%)¹

	Vaca	Cabra	Oveja
Agua (%)	87,5	87,0	82,5
Sólidos Totales (%)	12,5	13,0	17,5
Grasa (%)	3,5	3,5	6,5
Proteína Bruta (%)	3,2	3,5	5,5
Caseína (%)	2,6	2,8	2,6
Lactosa (%)	4,7	4,8	4,8
Minerales (%)	0,7	0,8	0,9

¹ Datos tomados de Pulina y Nudda (2002)

La leche de oveja, comparada con la de vaca y cabra (Tabla 2.1.), se caracteriza por tener un alto contenido en sólidos totales, grasa y proteína y por ser más rica en vitaminas A, B y E y en Ca, P, K y Mg que la leche de vaca y de cabra (Zervas y Tsiplakou, 2011). Estas características hacen que la leche de oveja sea ideal para la elaboración de quesos y otros productos lácteos.

2.1. Composición de la grasa de la leche de oveja

Uno de los aspectos más importantes de la leche de oveja y al que recientemente se le esta prestando gran atención desde la comunidad científica, es el relacionado con la calidad de su grasa, tanto desde el punto de vista económico, como nutricional, además de por las propiedades físicas y sensoriales que confieren a los productos lácteos (Sanz Sampelayo et al., 2007).

La grasa de la leche se encuentra en forma de glóbulos en emulsión, con un núcleo hidrofóbico rodeado por una membrana compuesta mayoritariamente por fosfolípidos y glicoproteínas y con un diámetro medio de 4,0 μm en la oveja, y de 3,9 y 4,4 μm en la cabra y en la vaca respectivamente. Algunos estudios han señalado que el tamaño medio de los glóbulos grasos en la leche de oveja, con un 65% menores de 3 μm , es el más pequeño, seguido del de la leche de cabra (Mens, 1985). El menor tamaño de los glóbulos grasos en la leche de oveja y de cabra explica la mayor digestibilidad de la grasa y un metabolismo más eficiente de los lípidos cuando se compara con la grasa de la leche de vaca (Park et al., 2007).

La grasa de la leche está compuesta principalmente por triglicéridos (aproximadamente un 98% del total de la grasa) y en menor cantidad por otros lípidos simples (monoglicéridos, diglicéridos, colesterol), lípidos complejos (fosfolípidos) y compuestos liposolubles (esteroles, ésteres de colesterol, hidrocarburos) (Haenlein y Wendorff, 2006).

Al igual que hay diferencias en el porcentaje de grasa de la leche entre las principales especies de rumiantes, existen también diferencias notables en la proporción de algunos ácidos grasos.

La grasa láctea es la única que contiene concentraciones sustanciales de ácidos grasos de cadena corta y media (C4:0 - C14:0). Destaca el contenido en ácido caproico (C6:0), caprílico (C8:0) y cáprico (C10:0), siendo aproximadamente 2 veces mayor en la leche de oveja que en la de vaca, constituyendo alrededor del 15% del total de los ácidos grasos de la leche (Tabla 2.2.). El elevado contenido de estos ácidos grasos de cadena corta y media favorecen su punto de fusión más bajo, lo que afecta de manera positiva a su digestibilidad y favorece su biodisponibilidad (Juárez y Fontecha, 2009).

La concentración de ácidos grasos ramificados en la leche de oveja (C14:0 *iso*, C15:0 *iso* y *anteiso*, C16:0 *iso* y C17:0 *iso* y *anteiso*) está en torno al 2% del total de ácidos grasos y su importancia radica en las características organolépticas que confieren, junto con los ácidos grasos de cadena corta y media, a los productos lácteos obtenidos (Park et al., 2007).

En general, la leche de oveja presenta contenidos más altos de *trans* C18:1 que la de vaca y cabra, siendo el *trans-11* C18:1 el principal isómero *trans* presente en la grasa láctea, que supone alrededor del 45- 60% del total de isómeros *trans* en la grasa de la leche de las tres especies (Goudjil et al., 2004).

Tabla 2.2. Principales ácidos grasos (g/100 g total FA) de la grasa de la leche de vaca, cabra y oveja, de animales alimentados con prácticas similares (raciones unifeed, con un 60-70 % de forraje, sin grasa añadida).

	Vaca ¹	Cabra ²	Oveja ³
C4:0	5,17	-	2,8
C6:0	3,38	1,58	2,39
C8:0	1,98	2,01	3,45
C10:0	4,23	8,23	8,61
C12:0	4,8	3,93	5,37
C13:0	0,25	-	0,18
C14:0	13,78	10,68	10,18
<i>cis-9</i> C14:1	1,36	0,22	0,76
C15:0	1,68	-	1,39
C16:0	33,36	35,88	22,04
<i>cis-9</i> C16:1	1,87	0,93	1,64
C18:0	5,73	6,91	10,5
<i>trans-11</i> C18:1	-	0,7	2,53
Σ <i>trans</i> C18:1	1,4	1,54	-
<i>cis-9</i> C18:1	11,59	18,54	15,35
<i>cis-9, cis-12</i> C18:2	-	2,36	3,47
<i>cis-6, cis-9, cis-12</i> C18:3 n-6	-	0,09	0,06
<i>cis-9, cis-12, cis-15</i> C18:3 n-3	0,39	0,45	1,22
<i>cis-9, trans-11</i> C18:2 (RA)	0,45	0,63	0,89
<i>trans-10, cis-12</i> C18:2 (CLA)	0	0,0004	0,02
C20:0	0,12	-	0,38

Datos tomados de ¹Bell et al. (2006); ²Nudda et al. (2006) y ³De La Fuente et al. (2009).

Entre los ácidos grasos poliinsaturados es de particular interés el CLA, acrónimo usado para describir una mezcla de isómeros del ácido linoleico con dobles enlaces conjugados. El mayor isómero del CLA en la leche es el *cis-9, trans-11* C18:2 (ácido

ruménico, RA) y representa alrededor del 80 % del total del CLA (Parodi, 1977). Otros isómeros del CLA están presentes en pequeñas cantidades en la leche de oveja como se puede observar en la Tabla 2.3.

Uno de los aspectos más novedosos en la composición de la grasa de la leche, es su contenido en PUFA n-3. De la Fuente et al. (2009) en un estudio llevado a cabo en 14 explotaciones ovinas de raza Churra durante dos años, observaron niveles relativamente altos de α -linolénico en la grasa de la leche de oveja (1,22%). Sin embargo, el contenido de PUFA n-3 de cadena larga (DHA y EPA) en la grasa de la leche de rumiantes es extremadamente bajo (Nudda et al., 2006).

Tabla 2.3. Isómeros del ácido linoleico conjugado (% del total de CLA) de la grasa de la leche de oveja¹

CLA isómeros	Oveja ¹
<i>trans-12, trans-14</i>	1,31-3,47
<i>trans-11, trans-13</i>	1,21-5,08
<i>trans-10, trans-12</i>	1,17-1,77
<i>trans-9, trans-11</i>	1,13-1,99
<i>trans-8, trans-10</i>	1,05-1,37
<i>trans-7, trans-9</i>	0,48-0,61
12-14 (c, t/t, c)	0,52-1,83
11-13 (c, t/t, c)	0,76-4,23
10-12 (c, t/t, c)	0,28-0,41
9-11 (c, t/t, c)	76,5-82,4
8-10 (c, t/t, c)	0,11-0,71
7-9 (c, t/t, c)	3,31-9,69

c,t/t, c corresponde a la suma de los isómeros *cis-trans* más *trans-cis* C18:2

¹Datos tomados de Luna et al. (2005)

2.2. Origen de la grasa y de los distintos ácidos grasos de la leche

Alrededor del 50% de los ácidos grasos de la grasa de la leche son sintetizados *de novo* en la glándula mamaria y el resto de los ácidos grasos proceden de los lípidos de la dieta (alrededor de un 40 - 45%) y/o de la movilización de las reservas corporales del animal, en proporción variable dependiendo de la fase de lactación en la que se encuentre el animal (Chilliard et al., 2000), desde un 5% si el animal está bien alimentado hasta un 20% del total de ácidos grasos de la leche cuando el animal se encuentra al inicio de la lactación y tiene lugar la movilización de reservas corporales

para obtener la energía necesaria que no se llega a cubrir con la ingestión de alimento (Bauman y Griinari, 2003).

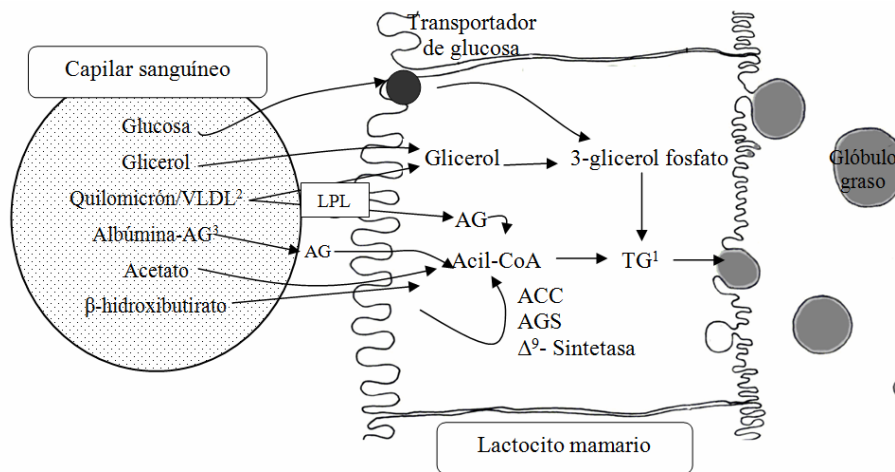


Figura 2.1. Metabolismo celular de los ácidos grasos en la glándula mamaria. (Adaptado de Chilliard et al., 2000). ¹TG, triglicéridos; ²VLDL, lipoproteína de baja densidad, ³AG, ácido graso; ACC, Acetil-CoA carboxilasa; AGS, enzima *ácido graso sintetasa*.

Los triglicéridos son sintetizados *de novo* (Figura 2.1.) a partir de ácidos grasos de origen sanguíneo en el polo citoplasmático del retículo endoplásmico liso (REs), mediante la acción de la enzima *ácido graso sintetasa* (AGS) (Bauman et al., 2006). A continuación, se segregan en el citoplasma en forma de pequeñas gotitas de microlípidos, donde son recubiertos por proteínas y lípidos polares segregados por la membrana del retículo endoplásmico (Ian, 2000). Se agrupan en gotitas lipídicas que aumentan de tamaño a medida que se alejan del REs, atraídas por la membrana apical de la célula, donde son envueltas por la membrana citoplasmática y, cuando las gotas están completamente rodeadas por dicha membrana, son liberadas al lumen alveolar (Kanno, 1990).

2.2.1. Ácidos grasos saturados de cadena par

Los ácidos grasos de cadena corta y media (C4:0 - C14:0) y aproximadamente la mitad del contenido de C16:0 son sintetizados *de novo* en las células del epitelio mamario (Figura 2.1.), a través de la ruta bioquímica del malonil-CoA, a partir del acetato y del β-hidroxibutirato derivados de la fermentación ruminal, que llegan a la glándula mamaria por vía sanguínea (Peaker, 1977).

En la glándula mamaria solamente se sintetizan como máximo ácidos grasos de hasta 16 átomos de carbono (Annison et al., 1967). Los ácidos grasos de menos de 16 átomos de carbono son esterificados principalmente en las posiciones sn-2 y sn-3 del glicerol (Mills et al., 1976), por lo tanto su utilización en la síntesis de triglicéridos depende de la disponibilidad de ácidos grasos preformados de 16 carbonos o más para la acilación de la posición sn-1 (Hansen y Knudsen, 1987).

Los ácidos grasos de cadena larga (C18:0 o superior) y el 50% del contenido en C16:0 de la grasa de la leche, son captados por la glándula mamaria del torrente sanguíneo, al que llegan, procedentes de la dieta, transportados en quilomicrones y en lipoproteínas de baja densidad (LDL) y/o son movilizados desde el tejido adiposo en forma de ácidos grasos no esterificados. La enzima *lipoproteína lipasa* (LPL) ayuda a la transferencia de los ácidos grasos de los triglicéridos de las lipoproteínas de la sangre a los triglicéridos de la leche, al hidrolizar los triglicéridos a nivel de la pared capilar o de la superficie celular mamaria, penetrando los ácidos grasos libres y el glicerol en la célula mamaria (Figura 2.1.). Esta lipasa es altamente específica para los ésteres primarios de los acylgliceroles y presenta una ligera especificidad hacia el éster sn-1 frente a la posición sn-3 (Jensen y Pitas, 1976).

2.2.2. Ácidos grasos saturados de cadena impar y ramificados

Se pueden distinguir tres tipos de ácidos grasos ramificados: *iso* (*iso* C14:0, *iso* C16:0), impares *iso* (*iso* C15:0, *iso* C17:0) e impares *anteiso* (*anteiso* C15:0, *anteiso* C17:0).

La principal fuente de ácidos grasos de cadena impar y ramificados de la grasa de la leche es la síntesis por los microorganismos del rumen (Kaneda, 1991), mientras que la síntesis endógena en la glándula mamaria es limitada (Keeney et al., 1962). Así, los ácidos grasos impares y ramificados se pueden utilizar como marcadores para cuantificar y clasificar la población bacteriana que abandona el rumen y para predecir las proporciones formadas en el rumen de ácidos grasos volátiles (Vlaeminck et al., 2006).

Los ácidos grasos saturados impares o sus isómeros *anteiso*, pueden ser sintetizados *de novo* en la glándula mamaria a través de la incorporación de propionyl-CoA como sustrato de la *ácido graso sintetasa* en lugar de acetyl-CoA y metilmalonil-CoA, en

lugar de malonil-CoA, respectivamente (Smith, 1994). Por lo tanto, la única diferencia entre la síntesis de ácidos grasos saturados de cadena par y los impares y ramificados reside en el sustrato de la enzima *ácido graso sintetasa* y los productos obtenidos (Kaneda, 1991).

2.2.3. Ácidos grasos monoinsaturados

El ácido graso C14:1 se forma casi exclusivamente en la glándula mamaria a partir del C14:0 por la acción de la enzima Δ^9 -*desaturasa* (Gómez-Cortés et al., 2008).

El *cis-9* C16:1 (ácido palmitoleico) de la grasa de la leche se forma mayoritariamente por la acción de la Δ^9 -*desaturasa* en la glándula mamaria usando el mismo mecanismo empleado que para convertir C18:0 en *cis-9* C18:1. Esta enzima está localizada en el retículo endoplasmático de la célula de la glándula mamaria y sus principales sustratos son el ácido palmítico y el esteárico.

El ácido oleico (*cis-9* C18:1) es el ácido graso monoinsaturado mayoritario en la grasa de la leche de oveja, cuyo origen se puede atribuir directamente a la dieta, a la desaturación en la glándula mamaria del ácido esteárico (C18:0) por la acción de la enzima Δ^9 -*desaturasa* o a la movilización de las reservas corporales (Chilliard y Ferlay, 2004; Gómez-Cortés et al., 2008).

La composición en ácidos grasos monoinsaturados *trans* de la grasa de la leche de rumiantes, refleja los procesos de biohidrogenación incompletos que sufren los ácidos grasos de la dieta a nivel ruminal (Luna et al., 2009).

Los procesos de biohidrogenación en el rumen de los PUFA de la dieta implican la formación de varios isómeros posicionales *trans* del C18:1, siendo el *trans-11* C18:1 (ácido vacénico, VA) el mayor isómero *trans* producido en el proceso de biohidrogenación del ácido linoleico (Figura 2.2.) (Chilliard y Ferlay, 2004; Bauman et al., 2006). La importancia de este isómero radica en que es el precursor de la síntesis del ácido ruménico (*cis-9, trans-11* C18:2, RA) en la glándula mamaria (Griinari y Bauman, 1999).

El isómero *trans-10* C18:1 se forma principalmente de la isomerización del *cis-9* C18:1 antes que del *trans-10, cis-12* C18:2 (Griinari y Bauman, 1999; Looor et al., 2002). Los isómeros *trans 6+7+8* y *trans-9* C18:1 son los primeros en formarse en el

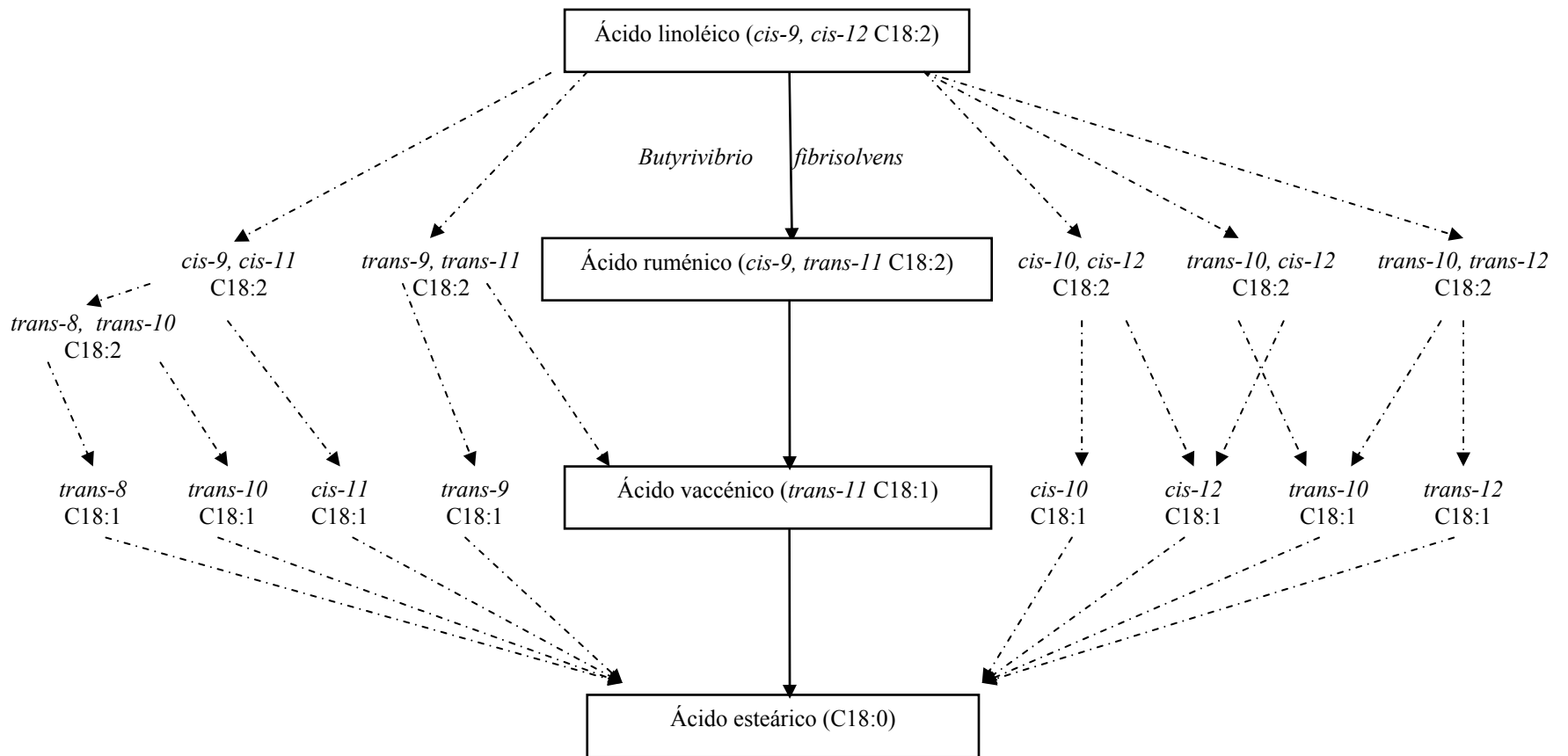


Figura 2.2. Rutas principales de biohidrogenación del *cis-9, cis-12* C18:2 en el rumen (adaptado de Shingfield et al., 2010 y Wallace et al., 2007). Las líneas continuas representan el principal camino de biohidrogenación, mientras que líneas discontinuas representan rutas alternativas.

proceso de biohidrogenación del ácido oleico en el rumen, mientras que el *trans-10* C18:1 se forma más tarde (Gómez-Cortés et al., 2008).

Luna et al. (2009) han sugerido una posible conversión de los ácidos grasos C18 en C16 para explicar el contenido de isómero *trans* C16:1 en la grasa de la leche debido, por una parte a una fuerte correlación entre el total de *trans* C16:1 y *trans* C18:1 en la grasa de la leche y por otra a que la dieta de rumiantes es escasa en isómeros *cis* C16:1 susceptibles de isomerización y/o hidrogenación en el rumen. De acuerdo con Osmundsen et al. (1991) y Wood (1979) el contenido de *trans* C16:1 podría ser debido al acortamiento de *trans* C18:1 por el proceso de β -oxidación peroxisomal que tiene lugar en distintos tejidos.

2.2.4. Ácidos grasos poliinsaturados: CLA y PUFA n-3

Diferentes estudios han demostrado la existencia de una gran variedad de isómeros del CLA en la grasa de la leche de rumiantes (más de 10 isómeros posicionales y 4 isómeros geométricos) (Shingfield et al., 2010). Su biosíntesis se debe a dos procesos diferentes: por un lado, a la biohidrogenación incompleta de los PUFA de la dieta y por otro lado, a procesos de desaturación que tienen lugar en la glándula mamaria (Palmquist et al., 2005).

El isómero más destacado del CLA, tanto desde el punto de vista cuantitativo como de sus efectos sobre la salud humana, es el *cis-9, trans-11* C18:2 (RA). Su contenido en la grasa de la leche de oveja representa entre el 78 y 89% del total del CLA (Antongiovanni et al., 2004). El RA es uno de los ácidos grasos intermediarios en el proceso de biohidrogenación del ácido linoleico (C18:2 n-6) de la dieta en el rumen (Figura 2.2.). La ruta clásica de biohidrogenación involucra únicamente tres pasos: isomerización inicial a *cis-9, trans-11* C18:2, seguido de hidrogenación a VA y finalmente a C18:0 (Harfoot y Hazlewood, 1997). El paso final de reducción es considerado limitante, debido a la gran estabilidad del enlace *trans-11*, lo que puede provocar una acumulación de VA en el fluido postruminal (Kraft et al., 2003). En la mayoría de las dietas de rumiantes el proceso de biohidrogenación del ácido linoleico varía entre 70 y 95%, lo que parece indicar que, a excepción de las dietas con aceites marinos, el C18:0 es el ácido graso mayoritario que abandona el rumen (Shingfield et al., 2010).

Los procesos de biohidrogenación involucran a pocas especies de bacterias ruminales, que llevan a cabo estas reacciones como mecanismos de protección frente a los efectos tóxicos de los PUFA de la dieta (Lock y Bauman, 2004) y/o para proporcionar el perfil de ácidos grasos ideal para su crecimiento (Bauman et al., 2011). Diversos estudios han permitido caracterizar a las bacterias del grupo *Butyrivibrio*, como las principales responsables de la biohidrogenación del ácido linoleico en el rumen (Wallace et al., 2007). La primera bacteria que se señaló como encargada de producir RA a partir de ácido linoleico fue *Butyrivibrio fibrisolvens* (Kepler et al., 1966), aunque estudios posteriores lo asociaron enteramente al grupo *Butyrivibrio*. Devillard et al. (2007) señalaron que la bacteria no ruminal *Propionibacterium freudenreichii* subespecie *freudenreichii* se encarga también de producir isómeros geométricos 9,11 del CLA a partir del ácido linoleico, aunque la actividad específica de formación de RA a partir de ácido linoleico es varias veces mayor con las bacterias ruminales *Butyrivibrio* comparada con las especies no ruminales (Devillard y Wallace, 2006).

Se ha hecho evidente con el transcurso de las investigaciones que los procesos de biohidrogenación en el rumen son más complejos de lo que se pensaba en un principio y que existen rutas alternativas (Figura 2.2.), ya que una amplia variedad de *trans* C18:1 e isómeros del CLA han sido identificados en el fluido postruminal (Bauman et al., 2003). Griinari y Bauman (1999) propusieron una ruta alternativa de biohidrogenación que explicaría la síntesis del isómero *trans-10, cis-12* C18:2 (Figura 2.2.). En dicha ruta, la primera etapa sería la isomerización del ácido linoleico a *trans-10, cis-12* C18:2 a través de la enzima *cis-9, trans-10 isomerasa*, para después hidrogenarse a *trans-10* C18:1 y finalmente a ácido esteárico. Kim et al. (2002) propusieron a *Megasphaera elsdenii* como la bacteria responsable de dicha isomerización en vacas lecheras. De hecho, Wallace et al. (2007) no observaron ninguna cepa de *Megasphaera* como responsable de la producción de RA a partir de ácido linoleico en ovejas.

Estudios recientes llevados a cabo en ganado bovino, han observado el efecto inhibitorio que sobre la síntesis de grasa en la glándula mamaria tienen los isómeros *trans-10, cis-12* C18:2, *cis-10, trans-12* C18:2, *trans-9, cis-11* C18:2 y *trans-10* C18:1, todos ellos intermediarios en los procesos de biohidrogenación (Shingfield y Griinari, 2007; Bauman et al., 2011).

Grinari y Bauman (1999) propusieron la síntesis endógena como una fuente importante del RA en la grasa de la leche, mediante la desaturación en la glándula mamaria del VA procedente del rumen por acción de la enzima Δ^9 -desaturasa. Dicha enzima, a la que también se conoce como *stearoyl-CoA*, introduce un doble enlace *cis* en la posición del carbono 9. De los resultados de distintas investigaciones llevados a cabo en vacas lecheras, se ha obtenido que la mayoría del RA de la grasa de la leche (70-90%) proviene de la síntesis endógena en la glándula mamaria (Palmquist et al., 2005).

Además de la transformación de VA en RA, la enzima Δ^9 -desaturasa también es responsable de la producción del isómero *trans-7, cis-9* C18:2 y del isómero no conjugado *cis-9, trans-13* C18:2 (Ulberth y Henniger, 1994; Corl et al., 2002). La enzima Δ^9 -desaturasa actúa sobre el isómero *trans-7* C18:1 procedente del rumen, sintetizando *trans-7, cis-9* C18:2 en la glándula mamaria.

La Δ^9 -desaturasa en la glándula mamaria de los rumiantes, actúa como un mecanismo para mantener y regular la fluidez de la grasa de la leche y asegurar su eyección en la glándula mamaria (Timmen y Patton, 1988). La glándula mamaria de los rumiantes es el tejido con mayor actividad de la Δ^9 -desaturasa (Kinsella, 1972).

La ruta clásica de biohidrogenación del ácido linolénico (*cis-9, cis-12, cis-15* C18:3, n-3) de la dieta en el rumen (Figura 2.3.), descrita por Harfoot y Hazlewood (1997), involucra población bacteriana, que en condiciones normales produce la isomerización del doble enlace *cis-12* para la formación de ácido rumelénico (*cis-9, trans-11, cis-15* C18:3), seguida de la hidrogenación de los dobles enlaces 9, 15 y 11 para producir *trans-11, cis-15* C18:2, *trans-11* C18:1 y C18:0. Estudios recientes *in vivo* e *in vitro* sugieren rutas alternativas de biohidrogenación con la formación de metabolitos intermediarios específicos (Figura 2.3.) que pueden ser transferidos a la leche (Destailats et al., 2005; Gómez-Cortés et al., 2009a; Shingfield et al., 2010).

El interés del contenido en la grasa de la leche de EPA (C20:5 n-3) y DHA (C22:6 n-3) radica en sus potenciales beneficios para la salud. El contenido de estos ácidos grasos en las dietas tradicionales de rumiantes es mínimo, sin embargo, en la actualidad, el empleo de materias primas ricas en estos ácidos grasos está cobrando un gran interés.

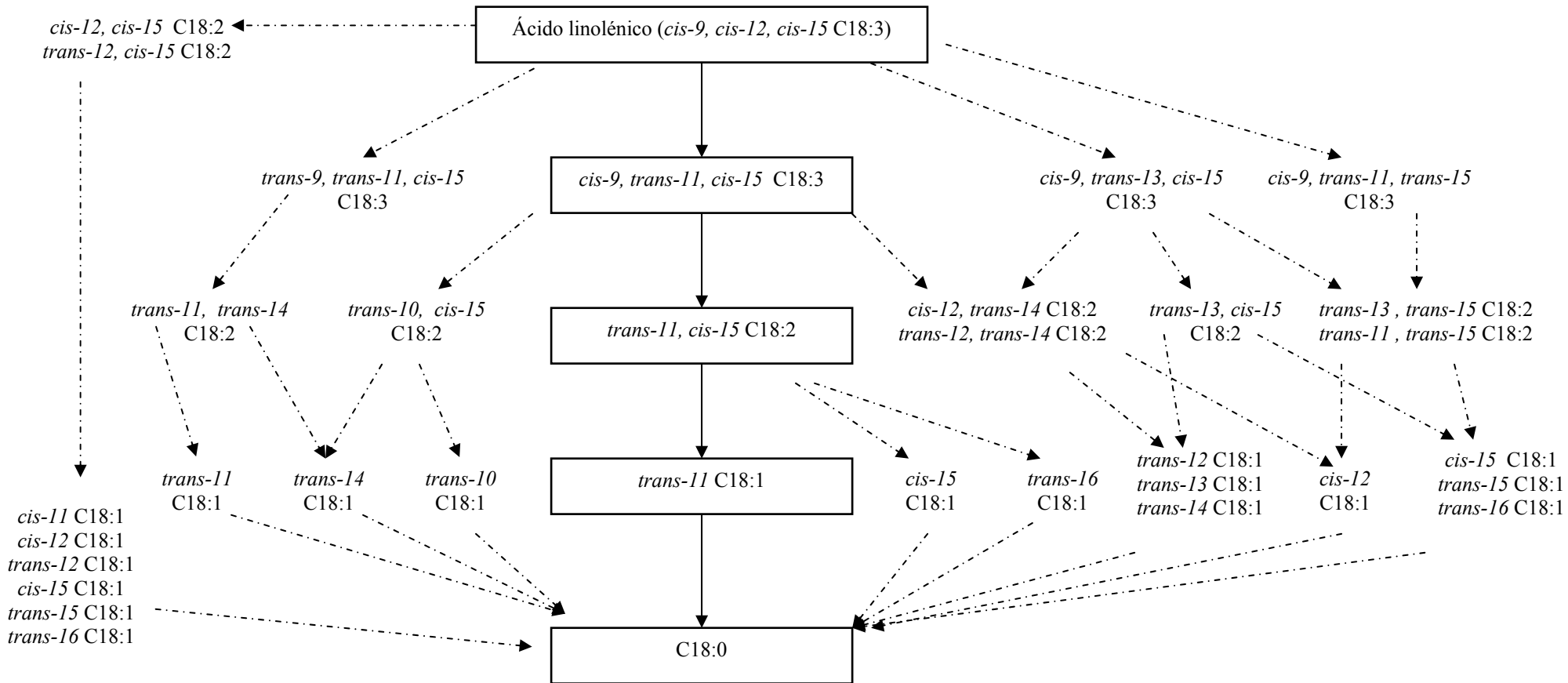


Figura 2.3. Rutas principales de biohidrogenación del *cis-9, cis-12, cis-15* C18:3 en el rumen (Gómez-Cortés et al., 2009a; Shingfield et al., 2010). Las líneas continuas representan el principal camino de biohidrogenación, mientras que líneas discontinuas representan rutas alternativas.

Aunque numerosos estudios han demostrado que EPA y DHA son extensivamente metabolizados en el rumen, los mecanismos responsables y los intermediarios son aun desconocidos (Shingfield et al., 2010). En general, la eficiencia con que se transfieren el EPA y el DHA de la dieta a la grasa de la leche es baja, de un 2 y un 4% respectivamente (Lock y Bauman, 2004). Para explicar las limitaciones en la transferencia se han sugerido dos hipótesis: la primera la biohidrogenación de EPA y DHA por las bacterias del rumen y la segunda su partición en fracciones lipídicas en el plasma que las hace menos disponibles para la glándula mamaria (Offer et al., 1999 y 2001). Chikunya et al. (2004) observaron un alcance de la biohidrogenación del DHA y EPA en ovejas canuladas del 91 y 92% respectivamente.

2.3. Factores que influyen en la producción y composición de la grasa

2.3.1. Factores no nutritivos

Aunque la alimentación es el factor que mayor influencia tiene sobre la variación observada en el contenido y composición de la grasa de la leche (Pulina et al., 2006), otro tipo de factores de tipo fisiológico (Tsiplakou et al., 2006a), de manejo del rebaño (Castillo et al., 2008) o ambientales (Nudda et al., 2005) pueden afectarla. Dentro de los factores fisiológicos destacan la especie, la raza, la fase de lactación y el número de parto y dentro de las prácticas de manejo destaca sobre todo el método de ordeño empleado.

2.3.1.1. Factores genéticos

El contenido en grasa de la leche varía en función de la especie de rumiante (Tabla 2.1.), siendo la leche de oveja la que mayor contenido en grasa tiene (6,5 %) en comparación con la leche de vaca (3,5 %) y cabra (3,5 %). Las variaciones en el contenido en grasa de la leche debidas a factores genéticos, se manifiestan individualmente (diferencias en la progenie) y colectivamente (diferencias entre razas, Tabla 2.4.) (Goetsch et al., 2011), siendo la influencia de la raza menor que la de otros factores como la dieta (Tsiplakou et al., 2006a). La raza determina en gran medida el potencial productivo de los animales, en este sentido, de tal manera que las razas más especializadas en la producción de leche son las que presentan los contenidos en grasa más bajos.

En un estudio llevado a cabo por Tsiplakou et al. (2008) en el que se comparaban 4 razas de ovejas, alimentadas con la misma ración, observaron diferencias significativas en el porcentaje de grasa de la leche, debidas a la raza, sin que el perfil de ácidos grasos se viera afectado. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Barbosa et al. (2003), sin embargo, otros estudios han observado diferencias en el perfil de ácidos grasos de la grasa de la leche de oveja debidas a la raza (Secchiari et al., 2001).

Diversos estudios llevados a cabo en vacas lecheras han demostrado que existe relación entre el material genético y la síntesis y secreción de la grasa de la leche (Bionaz y Loor, 2008; Mele, 2009). Moioli et al. (2012) en un trabajo llevado a cabo con tres razas de ovejas, han señalado que el gen AGS (enzima *ácido graso sintetasa*) está directamente involucrado en la variabilidad de los niveles de ácidos grasos insaturados de la grasa de la leche, y han sugerido que el esfuerzo que se realiza para modificar la grasa de la leche a través de la dieta debería estar acompañado de la selección de aquellos genotipos que produzcan leche rica en ácidos grasos saludables.

Tabla 2.4. Contenido en grasa de la leche de algunas razas ovinas

Raza	Grasa (%)	Fuente
Manchega	9,07	Pulina y Nudda (2002)
Assaf	5,89	Toral et al. (2010b)
Lacaune	7,14	Pulina y Nudda (2002)
Awassi	6,70	Pulina y Nudda (2002)
Friesland	7,4	Tsiplakou et al. (2008)
Latxa	6,07	Garcia-Rodriguez et al. (2011)
Sarda	6,69	Tsiplakou et al. (2008)
Churra	8,43	Bodas et al. (2010)
Merina	8,48	Tsiplakou et al. (2008)

Miari et al. (2007) han señalado que el gen SCD (enzima *stearoyl-CoA desaturasa* o Δ^9 -*desaturasa*), limitante en el proceso de biosíntesis de los MUFA, es el mayor responsable de la variación de los fenotipos observados en relación con el perfil de ácidos grasos de la grasa de la leche de oveja. Oravcová et al. (2007) han sugerido que, en el ganado ovino, los polimorfismos en el gen SCD parecen estar directamente correlacionados con el grado de especialización lechera de las diferentes razas (Lacaune > Assaff > Churra), con la síntesis de lípidos en la glándula mamaria y, por lo tanto, con el contenido en grasa de la leche.

2.3.1.2. Fase de lactación

Uno de los factores fisiológicos que afecta al contenido en grasa de la leche de oveja es la fase de lactación, de tal manera que a medida que la lactación avanza, la composición de la leche cambia, aumentando la concentración de grasa y proteína (Pulina y Nudda, 2002).

El contenido graso de la leche es más elevado tras el parto (Figura 2.4.), debido en parte, a la intensa movilización de grasa desde el tejido adiposo del animal, necesaria en períodos con balance energético negativo, como es el caso del inicio de lactación. Esta concentración disminuye progresivamente al avanzar la lactación, por un efecto de dilución al aumentar el volumen de leche producido y por el descenso de las reservas grasas movilizadas (Caja y Bocquier, 2000; Chilliard et al., 2003). En la fase intermedia y final de la lactación, cuando la producción de leche desciende, se observa de nuevo un aumento en el contenido en grasa de la leche (Goetsch et al., 2011), que en cabras se ha observado que tiene un alto contenido de C18:0 (Bernard et al., 2005).

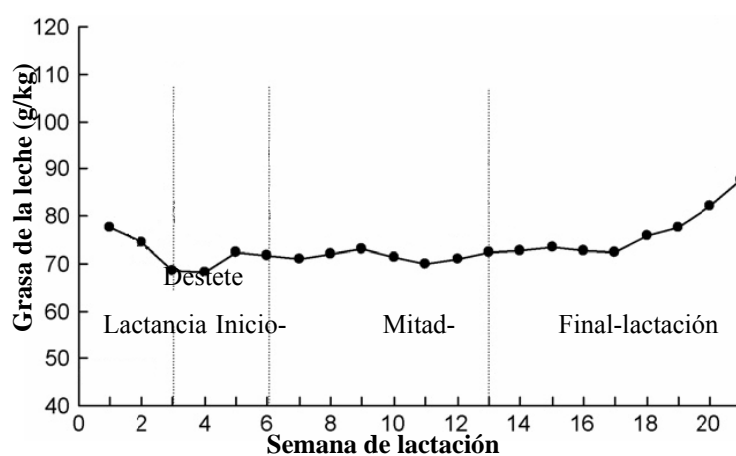


Figura 2.4. Evolución del contenido en grasa de la leche en ovejitas Manchegas durante toda la lactación (Figura adaptada de Casals et al., 2006).

La fase de lactación también afecta al perfil de ácidos grasos de la leche de oveja. Durante el inicio de lactación, los ácidos grasos que llegan a la glándula mamaria procedentes de la movilización del tejido adiposo de reserva, son ácidos grasos de cadena larga, mayoritariamente palmítico, esteárico y oleico (Chilliard et al., 2000; Chilliard y Ferlay, 2004). Estos ácidos grasos suponen un 20% del total de los ácidos

grasos de la leche de vaca, y un 48% en la leche de oveja cuando los animales están al inicio de la lactación (Bauman y Griinari, 2003; De la Fuente et al., 2009).

De la Fuente et al. (2009) en un estudio llevado a cabo en rebaños de ovejas Churras observaron que el nivel de RA en la leche de oveja subió del 0,78 al 0,92%, el de ácido linolénico del 1,13 al 1,24 % y el de los PUFA del 6,35 al 6,63% del total de ácidos grasos entre el inicio y el final de lactación. Asimismo, también observaron un aumento de la actividad de la Δ^9 -desaturasa CLA a lo largo de la lactación, de un 30,91 a un 37,14. Estos resultados están de acuerdo con los observados por Kesley et al. (2003) en vacas lecheras. Por el contrario, a medida que avanza la lactación se produce un descenso significativo del contenido en ácidos grasos saturados de cadena corta y larga (de 17,60 al 17,19% y de 36,38 al 36,31% entre el inicio y final de lactación, respectivamente).

2.3.1.3. Ordeño

Dentro de las prácticas de manejo, el método de ordeño de las ovejas condiciona en gran medida el contenido en grasa de la leche.

El porcentaje de grasa de la leche aumenta desde el principio del ordeño hasta el final y es mucho más alto en la leche residual obtenida tras la inyección de oxitocina a las ovejas (Labussiére, 1988). Estas diferencias en el contenido en grasa entre la leche cisternal y la residual son debidas a la dificultad que tienen los glóbulos grasos para drenar del compartimento alveolar al cisternal, ya que requieren una expulsión activa por parte del alveolo, mediante la contracción de las células mioepiteliales debido a la acción de la oxitocina y están relacionadas con los espacios intercelulares y con el tamaño de los glóbulos grasos (McKusick et al., 2001). Este aspecto resulta de especial interés en corderos lactantes, ya que son capaces de provocar la eyección de la leche alveolar, rica en grasa, por medio del estímulo de la succión (Papachristoforu, 1990).

El volumen de leche alveolar, mucho más rica en grasa que la leche cisternal (7,92% vs. 4,49 %; Gómez-Cortés et al., 2011; 11,7 vs. 8,8; McKusick et al., 2002), representa en las ovejas lecheras entre el 10 y el 25% del total de la leche, variando este porcentaje en función de la raza y de la capacidad de la cisterna mamaria (Castillo et al., 2008). Gómez-Cortés et al. (2011) en ovejas de raza Churra y McKusick et al. (2002) en ovejas

cruzadas East Friesian observaron que el 18 % y 70 % respectivamente del total de la grasa producida estaba contenida en la leche residual.

Aunque la secreción de la leche residual afecta a la producción de grasa total, el perfil de ácidos grasos de la leche alveolar y cisternal es similar, no observándose diferencias entre las dos fracciones de la leche en vacas (Kernohan et al., 1971) ni en ovejas (Gómez-Cortés et al., 2011).

El intervalo entre ordeños también puede afectar al contenido graso de las distintas fracciones de la leche. Así, McKusick et al. (2002) han podido comprobar que, a medida que aumenta el tiempo entre ordeños, el porcentaje de grasa de la leche ordeñada disminuye. Estos resultados han llevado a sugerir que, al incrementar el número de ordeños diarios se podría producir leche con un mayor contenido graso. De hecho, el aumento en la frecuencia de ordeños puede estimular la síntesis local de grasa en la glándula mamaria, aumentando la proporción de grasa en la fracción alveolar, con el consiguiente aumento de la grasa total de la leche (Labussière, 1988). Negro et al. (2001) han sugerido que la frecuencia de activación del estímulo nervioso de la ubre durante el ordeño mecánico aumenta la síntesis de oxitocina en las neuronas magnocelulares del hipotálamo y también induce a la liberación de oxitocina por la neurohipófisis y, por lo tanto, facilita la transferencia de la leche del alveolo a la cisterna e influye positivamente en la producción de leche y de grasa.

2.3.2. Factores nutritivos

En ovejas lecheras, al igual que en otros rumiantes, la alimentación es el principal determinante de la producción y calidad de grasa de la leche, ya que influye directamente en su síntesis (Zervas y Tsiplakou, 2011). Dentro de los factores nutritivos que afectan a la cantidad y calidad de la grasa de la leche destacan el tipo y proporción de forraje en la ración y el contenido y perfil de ácidos grasos de los suplementos lipídicos utilizados (Pulina et al., 2008).

2.3.2.1. Forraje de la ración

Uno de los aspectos de la composición de la dieta que afecta tanto al contenido en grasa de la leche como a su perfil de ácidos grasos es la calidad y la cantidad de la fracción fibrosa de la dieta (Sanz Sampelayo et al., 2007). El tipo (la especie, el estado

fenológico y el método de conservación) y la proporción de forraje (relación forraje:concentrado) de la ración, así como el tamaño de partícula de las fuentes de fibra empleadas condicionan la fermentación de los alimentos y, por tanto, el metabolismo de las grasas a nivel ruminal.

No todos los forrajes tienen el mismo efecto sobre la cantidad y calidad de la grasa de la leche debido a la influencia de la variedad, el grado de madurez, y el método de conservación del forraje (Dewhurst et al., 2006; Woods y Fearon, 2009).

La especie vegetal tiene un efecto significativo sobre el perfil de ácidos grasos de la leche de oveja (Piredda et al., 2002; Mele et al., 2007). Se han observado niveles mayores de ácido linolénico en la grasa de la leche de oveja cuando la ración se compone de especies leguminosas o mezcla de leguminosas y gramíneas que cuando la dieta es a base únicamente de pastos de gramíneas (Cabiddu et al., 2005a). Addis et al. (2005) observaron valores significativamente más altos de RA en la leche de ovejas alimentadas con pasto fresco a base de *Chrysanthemum coronarium* que en la leche de las alimentadas a base de *Hedysarum coronarium* (2,33 vs. 1,12 % del total de ácidos grasos), y valores más altos de ácido linolénico en la leche de ovejas alimentadas con pasto fresco a base de *Hedysarum coronarium* que en la de las alimentadas a base de *Chrysanthemum coronarium* (3,15 vs. 1,26 % del total de ácidos grasos). A pesar de que *Hedysarum coronarium* es también una especie vegetal rica en ácido linolénico aumenta menos el RA que *Chrysanthemum coronarium* debido, probablemente, a la presencia de taninos condensados que podrían inhibir parcialmente la biohidrogenación de los PUFA en el rumen (Makkar, 2001).

El contenido en PUFA del forraje varía dependiendo de su estado fenológico o grado de madurez, ya que su contenido es mayor en la fase vegetativa (forraje tierno) que en la fase reproductiva (forraje maduro) (Cabiddu et al., 2005b; Nudda et al., 2005). Este hecho determina que el estado fenológico de los forrajes sea de importancia a la hora de henificar o ensilar (Dewhurst et al., 2006).

En general, y aunque existen autores que han señalado que el estado fenológico del pasto no influye significativamente en el contenido en PUFA de la grasa de la leche de oveja (Piredda et al., 2002), a medida que el pasto madura se produce una reducción del nivel de CLA de la leche de oveja (Cabiddu et al., 2005 a,b; Nudda et al., 2005; Joy et

al., 2012b). Este comportamiento es debido a que el nivel del ácido α -linolénico, principal ácido graso del pasto, disminuye tanto en valor absoluto como relativo cuando la hierba madura (Chilliard et al., 2000; Nudda et al., 2003) y origina un descenso en el nivel del VA procedente de la biohidrogenación ruminal y por lo tanto del CLA sintetizado en la glándula mamaria. El rango de variación del RA en la leche de ovejas alimentadas con distintos forrajes, en distintos estados fenológicos es bastante grande, variando de 0,5-1,0 a 2,5-3% del total de ácidos grasos, siendo el efecto del estado fenológico mucho mayor que el de la especie del forraje (Cabiddu et al., 2005b).

La alimentación en pastoreo de las ovejas suele incrementar el contenido en VA, RA y PUFA n-3 de la leche y reducir las proporciones de ácidos grasos de cadena corta y media en comparación con las ovejas alimentadas con raciones totales mezcladas o con forrajes conservados (Nudda et al., 2005; Atti et al., 2006; Scerra et al., 2007; Joy et al., 2008; Joy et al., 2012b), al igual que ocurre en vacas y cabras (Chilliard et al., 2001 y 2006), aunque las ovejas presentan un mayor incremento en CLA de la leche que las vacas en condiciones de pastoreo (Banni et al. 1996). Las diferencias señaladas entre forrajes verdes y conservados han sido atribuidas a los procesos de oxidación que tienen lugar durante el cortado, secado y almacenamiento del forraje. Estos procesos producen reducciones de los ácidos grasos totales en torno al 50%, especialmente de los PUFA (Doreau y Poncet, 2000) y como consecuencia de los FA precursores del CLA en la grasa de la leche (Tsiplakou et al., 2006b). Estas pérdidas de C18:3 n-3 se reducen cuando el forraje se ensila rápidamente antes de marchitarse (Dewhurst et al., 2006).

Aunque son escasos los datos referentes al efecto del empleo de diferentes tipos de ensilado en el ganado ovino sobre el perfil de ácidos grasos de la grasa de leche, trabajos realizados en ganado bovino han puesto de manifiesto cambios en el perfil de ácidos grasos de la leche atribuidos al tipo de ensilado (Shingfield et al., 2005; Van et al., 2011). Así, estos autores han sugerido que el empleo de ensilado de maíz en la ración comparado con el ensilado de hierba promueve una biohidrogenación menos completa de los ácidos grasos en el rumen, debido, probablemente, al menor pH ruminal o a cambios en la población microbiana del rumen. Chilliard et al. (2001) también han observado peor aptitud del ensilado de maíz para fomentar la síntesis de CLA en comparación con el silo de hierba, aún siendo más rico en ácido linoleico.

La producción y composición de la grasa de la leche de oveja se ve afectada por la relación forraje:concentrado (F/C) (Zervas et al., 1999 a y b; Bocquier y Caja., 2001). Así, altos niveles de concentrado de la dieta (superiores al 60 % de la materia seca) ejercen un efecto negativo sobre el contenido graso de la leche de oveja y cabra (Sanz Sampelayo et al., 2007). La rápida degradación de los hidratos de carbono no estructurales provocan bajos niveles de pH a nivel ruminal y cambios en la población microbiana, limitando la degradación de los hidratos de carbono estructurales (Caja y Bocquier, 2000), y por lo tanto, disminuyendo la formación de acetato y butirato, principales precursores en la síntesis de ácidos grasos en la glándula mamaria (Sutton, 1976).

El pH ruminal juega un papel importante en el mantenimiento de un ambiente adecuado y estable para las bacterias ruminales *Butyrivibrio fibrisolvens*, involucradas en la biohidrogenación de los ácidos linoleico y linoléico. Se ha observado que valores de pH ruminal de 6 o superiores, asociados a raciones con alta proporción de forraje, tienen un efecto positivo en el contenido en CLA de la grasa de la leche de oveja (Tsiplakou et al., 2008). Sin embargo, el consumo de dietas con alta proporción de concentrado, asociadas a pH ruminales inferiores a 6, a menudo reducen y modifican la biohidrogenación de los ácidos grasos en el rumen, aumentando los niveles de *trans-10* C18:1 y *trans-10, cis-12* C18:2 y reduciendo el contenido de VA y RA en el rumen y en la grasa de la leche de oveja (Kukuk et al., 2001; Piperova et al., 2002; Antongiovanni et al., 2004; Mele et al., 2006). El descenso en la producción y contenido graso en la leche de vaca (síndrome de baja grasa en la leche, MFD) con raciones ricas en concentrado, ha sido atribuido al efecto inhibitorio que sobre la síntesis de grasa en la glándula mamaria tienen los ácidos grasos *trans-10* C18:1 y *trans-10, cis-12* C18:2 (Griinari y Bauman, 2003; Bauman et al., 2011).

2.3.2.2. Suplementación con grasas

Los suplementos lipídicos en la alimentación de los rumiantes lecheros se utilizan tanto para aumentar la densidad energética de las raciones como para modificar el contenido y perfil de ácidos grasos de la leche. El efecto que los lípidos de la dieta tienen sobre la cantidad y calidad de la grasa de la leche depende de la cantidad y tipo de grasa y de la forma en la que se adicionan a la dieta (protegidos, en forma de semillas enteras, como semillas procesadas o en forma de aceite libre). Asimismo, el efecto de

las grasas puede variar dependiendo de la fase de lactación en la que se utilicen, de la relación F/C de la ración y de la eficiencia con que la grasa de la dieta se transfiere a la leche (Zervas y Tsiplakou, 2011).

Desde un punto de vista práctico, se recomienda que el nivel de grasa en las raciones de ovejas en lactación no supere el 6-7% de la materia seca, siendo los niveles máximos de incorporación de las fuentes de grasa en la dieta del 3-4% (Calsamiglia et al., 2009).

El efecto del contenido de grasa de la dieta de ovejas en lactación sobre la producción de grasa de la leche es variable. Así, se ha observado un aumento significativo en el contenido en grasa de la leche al aumentar la proporción de jabón cálcico de aceite de palma como fuente de grasa adicional en la ración de ovejas en lactación (Casals et al., 2006). Sin embargo, otros autores no han observado un efecto significativo sobre el contenido en grasa de la leche al incluir en las raciones proporciones crecientes de semilla extrusionada de lino (Gómez-Córtés et al., 2009b) o han encontrado reducciones en el contenido en grasa de la leche al aumentar el aporte de grasa de origen marino en la ración (Toral et al., 2010a).

El efecto que las diferentes fuentes de grasa empleadas en las dietas de ovejas en lactación tienen sobre la producción y composición de la grasa de la leche (Tabla 2.5.) es bastante uniforme, causando en general un aumento en la producción y contenido en grasa (Chilliard et al., 2003; Pulina et al., 2006; Sanz Sampelayo et al., 2007), exceptuando los aceites no protegidos de origen marino que tienen un efecto negativo sobre la producción de grasa de la leche (Toral et al 2010b). Las grasas de origen marino son ricas en PUFA n-3 de cadena larga, que inhiben la reducción de VA a ácido esteárico en el rumen, lo que supone una reducción en el contenido en C18:0 que llega a la glándula mamaria para la síntesis de ácido oleico (Shingfield et al., 2010). Shingfield y Griinari (2007) propusieron que esta escasez de C18:0 en la glándula mamaria junto con los aumentos en *trans-10* C18:1, *trans-10*, *cis-12* C18:2 y *trans-9*, *cis-11* C18:2 en la grasa de la leche (con puntos de fusión más altos que la temperatura corporal), originados en el rumen al suplementar la ración con grasas de origen marino, podrían tener un impacto negativo en el mantenimiento de la fluidez de la grasa y por tanto en el contenido en grasa de la leche, causando el síndrome de baja grasa en la leche (MFD), observado mayoritariamente en vacas lecheras. Algunos autores han señalado que las ovejas son menos propensas al síndrome de baja grasa en la leche que las vacas lecheras

(Pulina et al., 2006) y puede deberse a su habilidad para rumiar y mantener la función normal del rumen y el pH ruminal y evitar situaciones de acidosis a nivel ruminal, incluso cuando la ración está finamente molida. También podría estar relacionado con la velocidad de paso del alimento, que es mayor en pequeños rumiantes que en vacas (Chilliard et al., 2003).

La fase de lactación en la que se encuentra la oveja, también podría afectar a la respuesta que la suplementación con grasa de la dieta tiene sobre el contenido en grasa de la leche, siendo mayor al inicio que en fases posteriores de la lactación (Chilliard et al., 2003, Casals et al., 2006; Gargouri et al., 2006). Esta respuesta puede ser interpretada como una mayor eficacia en la transferencia directa de los FA de la dieta a la leche en situaciones de balance energético negativo, como es el caso del inicio de la lactación y/o una mayor eficacia de esta transferencia al tejido adiposo en la mitad de la lactación con el objetivo de que los animales puedan recuperar las reservas corporales (Chilliard et al., 1991; Schmidely y Sauvant 2001). La movilización de reservas domina durante el inicio de lactación, y esto podría favorecer el mayor flujo de FA de la dieta hacia la glándula mamaria. Sin embargo las enzimas del tejido adiposo involucradas en la síntesis de FA *de novo* y las lipasas lipoproteicas son más activas después del pico de lactación, cuando las necesidades para la producción de leche son menores (Chilliard et al., 2003).

En las explotaciones intensivas de ovino de leche, el aceite hidrogenado de palma y los jabones cálcicos de aceite de palma son las principales fuentes de grasas empleadas como suplementos lipídicos en las raciones. Sin embargo, estas fuentes de grasa tienen poco contenido en ácido linoleico (0,1%) y linolénico (< 0,1%), principales precursores de RA y VA en el rumen (Castro et al., 2009), por lo que existe un gran interés por el estudio de otras fuentes lipídicas ricas en ácidos linoleico (soja, girasol, cártamo), α -linolénico (lino) y PUFA n-3 de cadena larga (aceites de origen marino) como suplementos de la dieta de ovejas en lactación (Tabla 2.5.). Algunos autores han señalado que los aceites ricos en ácido linoleico aumentan más los niveles de RA en la grasa de la leche que los aceites ricos en ácido α -linolénico (Bodas et al., 2010; Toral et al., 2010a), debido, principalmente a que el ácido linoleico de la dieta se isomeriza directamente en el rumen para formar RA y el α -linolénico produce únicamente RA por desaturación de VA en la glándula mamaria (Harfoot y Hazlewood, 1997).

Tabla 2.5. Efecto de diferentes fuentes de grasa sobre la cantidad y calidad de la grasa de la leche de ovejas en la fase intermedia de lactación^a

F/C	% fuente grasa en TMR	Grasa leche		g/100 g total de FA de la leche (diferencia porcentual respecto al control ¹)									
		g/Kg	g/dia	<i>trans</i> -10 C18:1	VA	<i>cis</i> -9 C18:1	RA	<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 C18:2	ALA	EPA	DPA	DHA	
Grasas industriales													
Aceite Hidrogenado de palma (Castro et al., 2009)	60/40	1,06	97,3 (-0,30)	91,0* (+22,9)		0,92 (+4,54)	16,7 (-5,38)	0,63* (+14,5)	0,09 (-10,4)	0,43* (+34,4)			
Jabón cálcico de aceite de palma (Casals et al., 2006)	44/56	4,00	102,4* (+30,4)	103,4* (+27,4)			23,42* (+54,5)	0,50 (-9,09)		0,60* (-37,5)			
Aceites libres													
Aceite de oliva ^b (Bodas et al., 2010)	43/57	3,00	95,5* (+13,3)	120 (+15,9)	0,79* (+192,6)	2,08* (+167)	21,1* (+48,9)	0,91* (+133)	0,00 (0,00)	0,36* (-30,8)	0,03* (-25,0)	0,06* (-25,0)	0,02 (0,00)
Aceite de oliva (Gómez-Cortés et al., 2008)	20/80	6,00 ^c	52,7 (-2,22)	102,9* (+17,2)	3,90* (+400)	1,42 (-16,9)	23,6* (+58,1)	0,61* (-36,4)	0,02* (+100)	0,15* (-31,8)			
Aceite de colza (Cieslak et al., 2010)	60/40	3,50	64,0 (-1,50)	84,6* (+4,70)				0,21* (+600)		4,0 (-24,5)			
Aceite de colza (Szumacher-Strabel et al., 2008)	60/40	5,00	69,0 (+3,91)			1,10 (-57,7)	12,0* (+71,4)	0,50 (+25,0)	0,10 (0,00)		0,23 (-20,7)		0,28 (-6,66)
Aceite de Girasol (Toral et al., 2010a)	50:50	2,40	65,1 (+5,85)	140,9 (+11,9)	0,65 (+91,2)	2,80* (+201)	16,0* (+20,2)	1,23* (+179)	<0,01 (0,00)	0,41* (-22,6)	0,04 (-20,0)	0,07* (-30,0)	0,02 (-33,3)
Aceite de Girasol b (Castro et al., 2009)	60:40	1,06	92,9 (-4,52)	80,0 (-12,1)		1,20* (+30,4)	17,8* (+6,47)	0,71* (+12,7)	0,09 (+6,97)	0,42* (-2,32)			
Aceite de soja ^b (Bodas et al., 2010)	43/57	3,00	83,7 (-0,71)	112 (+7,80)	0,77* (+185)	6,52* (+736)	16,0* (+13,2)	2,58* (+561)	0,01* (+100)	0,53 (+1,92)	0,03* (-25,0)	0,07 (-12,5)	0,02 (0,00)
Aceite de linaza ^b (Bouattour et al., 2006)	53/47	2,18	60,9* (+6,84)	114* (+5,47)		3,13* (+139)	19,5* (+8,45)	1,46* (+121)		1,38* (+76,9)			
Aceite de pescado (Toral et al., 2010b)	20/80	1,00	51,5* (-12,6)	135* (-10,9)	4,34* (+393)	4,47* (+183)	9,02* (-27,4)	1,66* (+159)	0,01 (0,00)	0,34 (+3,03)	0,15* (+400)	0,18* (+200)	0,38* (+1800)

(continua)

Tabla 2.5. Continuación

	F/C	% fuente grasa en TMR	Grasa leche		g/100 g total de FA de la leche (diferencia porcentual respecto al control ¹)								
			g/Kg	g/día	<i>trans</i> -10 C18:1	VA	<i>cis</i> -9 C18:1	RA	<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 C18:2	ALA	EPA	DPA	DHA
Aceites libres													
Aceite protegido de pescado ^d (Kitessa et al., 2003)	70/30	5,53 ^c	77 (+4,05)							13* (+62,5)	4,7* (+1075)		19* (+4650)
Aceite algas marinas + aceite girasol (Toral et al., 2010a)	50:50	1,50 + 2,40	56,7 (-7,80)	118 (-5,95)	4,99* (+1368)	7,25* (+679)	9,34* (-29,9)	2,58* (+486)	0,01*	0,36* (-32,1)	0,09* (+80,0)	0,13* (+30,0)	0,46* (+1433)
Semillas de oleaginosa													
Semilla entera linaza ^b (Bouattour et al., 2006)	53/47	6,53	58,5 (+2,63)	108 (-0,09)		1,70 (+29,8)	20,9* (+16,2)	0,79* (+19,7)		1,91* (+145)			
Semilla extrusionada linaza ^b (Gómez-Cortés et al., 2009b)	60/40	6,00 ^c	61,0 (-6,29)	54,0* (+58,0)	0,53 (0,00)	3,70* (+139)	20,2* (+9,01)	1,35* (+84,9)	0,01 (0,00)	0,02* (-50,0)	0,04* (+50,0)	0,08* (+33,3)	0,03 (0,00)
Semilla extrusionada linaza ^b (Gómez-Cortés et al., 2009b)	60/40	12,0 ^c	61,2 (-5,99)	50,80* (+48,7)	0,50 (-5,66)	5,76* (+272)	19,9* (+7,61)	2,33* (+219)	0,01 (0,00)	0,02* (-50,0)	0,04* (+50,0)	0,08* (+33,3)	0,03 (0,00)
Semilla entera linaza (Zhang et al., 2006)	78:22	6,70 ^c	65,2 (-2,24)	78,1 (+6,11)		1,50* (+66,7)	19,1* (+22,4)	1,50* (+50,0)	0,20* (+100)	1,80* (+100)			
Semilla entera de Girasol (Zhang et al., 2006)	78:22	5,90 ^c	64,1* (-3,89)	68,0* (-7,60)		1,50* (+66,6)	18,6* (+19,2)	2,30* (+130)	0,20* (+100)	1,40* (+55,5)			

¹ (FA * 100/ FA Control)-100

^a grupo control sin grasa añadida

^b grupo control con jabón cálcico de aceite de palma y/o aceite de palma

^c % del concentrado

^d fase final de la lactación

^e % MS

* indica diferencias significativas

La forma de incorporación de las fuentes de grasa es uno de los factores responsables de las modificaciones que ocurren en el perfil de ácidos grasos de la leche. Así, normalmente el contenido en PUFA, CLA y VA de la leche aumentan más con la suplementación con aceites vegetales no protegidos que con las semillas enteras de oleaginosas, mientras que las semillas extrusionadas y sometidas a tratamientos por calor tienen un efecto intermedio (Tabla 2.5.).

La incorporación de grasas puede tener efectos negativos sobre el metabolismo de las bacterias celulolíticas responsables de la digestión de la fibra, debido a que el proceso de biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados es tóxico para los microorganismos del rumen, disminuyendo la producción de ácido acético y por tanto el contenido y producción de grasa de la leche a medida que aumenta la grasa ingerida (Jenkins, 1993). Para evitar estos inconvenientes, es frecuente la utilización de grasas protegidas frente a la microbiota ruminal en las raciones, como es el caso de los jabones cálcicos, que permiten que la composición de la grasa de la leche refleje en mayor medida la composición de la grasa de la dieta (Zervas y Tsiplakou, 2011). A pH normales del rumen (6,00 - 6,63) estos jabones son inertes para los microorganismos ruminales, mientras que cuando pasan al abomaso y el pH desciende, se disocian las uniones y dejan libres los ácidos grasos que serán digeridos y posteriormente absorbidos. Sin embargo, los jabones cálcicos no están completamente protegidos frente a la degradación ruminal y especialmente cuando se incluyen ácidos grasos insaturados (Chilliard, 1993; Antongiovanni et al., 2002). Así, cuanto menor sea la protección de las grasas, mayor será el aumento en la leche de los niveles de C18:0 y C18:1, a expensas de los ácidos grasos de cadena corta y media (Sanz Sampelayo et al., 2007). Aunque el jabón cálcico de aceite de palma es la grasa protegida más ampliamente utilizada en las explotaciones lecheras de ovino, se están estudiando otras fuentes de grasa vegetales protegidas. Dobarganes García et al. (2005) observaron una mayor cantidad de C18:0 e *iso* C18:1 en la grasa de la leche de ovejas en lactación cuya ración había sido suplementada con jabón cálcico de aceite de oliva comparado con una ración control sin grasa añadida y con una con aceite de oliva, señalando que la grasa protegida podría verse afectada por la microbiota ruminal y, por lo tanto, las sales de ácido oleico podrían ser hidrogenadas a ácido esteárico y desaturadas de nuevo a ácido oleico en la glándula mamaria.

Cuando las semillas enteras de oleaginosas son incorporadas en las raciones, 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 mas completa de los PUFA, originando un mayor acumulo 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). Bouattour et al. (2006) observaron que cuando se suplementa la ración de ovejas en lactación con semilla entera de linaza se producen mayores aumentos de C18:0 en la grasa de leche que al emplear aceite de linaza, siendo los aumentos porcentuales respecto a un ración control con jabón cálcico de aceite de palma del 14% y 5%, respectivamente. Zhang et al. (2006) observaron un aumento del 52% en el contenido de ácido esteárico al incluir semilla entera de girasol en la ración de ovejas en lactación con respecto a una ración control sin grasa añadida; mientras que Toral et al. (2010a) observaron un aumento del 35% al incluir aceite de girasol en la ración. Estos mismos autores, han señalado que el aceite en forma libre es más efectivo que la adición de semillas para aumentar los contenidos en VA y RA en la grasa de la leche de ovejas (Tabla 2.5.), lo que confirma las afirmaciones anteriores que sugerían que los ácidos grasos en los aceites se encuentran más disponibles para los microorganismos a nivel ruminal (Chilliard et al., 2009).

La inclusión 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 estan más rápidamente disponibles para la lipólisis y biohidrogenación (Doreau et al., 2009). En ovejas en lactación se han observado mayores aumentos en el contenido en VA (+272% vs +283%) y RA (+219% vs +238 %) en la grasa de la leche cuando se suplementa la ración con semilla extrusionada de lino (Gómez-Cortés et al., 2009b; Mele et al., 2011) que cuando se emplea la semilla entera de linaza (VA: +30%, + 66%; RA: +20%, +50%) (Bouattour et al., 2006, Zhang et al., 2006).

Estudios realizados en ovejas lecheras ponen de manifiesto que una de las formas más eficientes para aumentar los niveles de VA y RA y reducir la relación n-6/n-3 en la grasa de la leche de ovejas, es la utilización de aceites vegetales en las raciones (Bouattour et al., 2007). Los aceites libres son las fuentes de grasa más accesibles para los microorganismos del rumen y por lo tanto son capaces de producir cambios más

notables en la composición en la grasa de la leche que el empleo de semillas y grasas protegidas (Lock y Bauman, 2004; Chilliard et al., 2007). Sin embargo, a pesar de los efectos positivos que la suplementación de la ración de ovejas en lactación con aceites vegetales tiene sobre el perfil de ácidos grasos, distintos autores han observado que la combinación de raciones con alto contenido en hidratos de carbono fermentables y aceites vegetales pueden aumentar el contenido de *trans-10* C18:1 en la grasa de la leche (Tabla 2.5.). Esta respuesta es debida a un cambio en las rutas de biohidrogenación de los PUFA, con el resultado de una mayor producción de *trans-10* C18:1 a partir de ácido linoleico a través de *trans-10, cis-12* C18:2 (Figura 2.2.) y a partir de ácido linolénico a través de *trans-10, cis-15* C18:2 (Figura 2.3.) (Shingfield et al., 2010).

Recientemente se está estudiando el empleo de grasas de origen marino (aceites de pescado y algas marinas) en las raciones de ovejas en lactación para aumentar los niveles en PUFA n-3 de cadena larga, beneficiosos para la salud humana, en la grasa de la leche de ovejas, como son el EPA y el DHA, en lugar de con el pasto. Los aceites marinos dependiendo de la especie, estación de año y localización geográfica poseen cantidades variables de EPA y DHA (Annett et al., 2009), además la eficacia de su transferencia a la leche de oveja es baja, siendo los índices de transferencia de EPA y DHA mayores cuando las grasas de origen marino se ofrecen de manera protegida (21% EPA y 18% DHA, Kitessa et al., 2003) que cuando se ofrecen sin ninguna protección (13.5% EPA y 11.4% DHA, Toral et al., 2010b). El bajo índice de transferencia de éstos ácidos grasos, podría ser debido al hecho de que los PUFA n-3 de cadena larga son altamente biohidrogenados en el rumen (Castañeda-Gutiérrez et al., 2007; Jenkins et al., 2008) y a que su acumulación, en forma de ésteres de colesterol en el plasma y fosfolípidos, podría originar un menor aporte de estos ácidos grasos a la glándula mamaria (Kitessa et al., 2001).

El empleo de fuentes de grasa de origen marino no es práctico a nivel de explotación debido a su elevado precio, sin embargo, presentan un gran interés como inhibidores del último paso de la biohidrogenación de los PUFA de la dieta, ya que siempre que haya una fuente de ácido linoleico o linolénico en la ración, provocan una acumulación de VA en el rumen y como consecuencia una mayor producción de RA en la glándula mamaria y un mayor nivel en leche (AbuGhazaleh y Jenkins, 2004). Así, Toral et al.

(2010b) al incluir un 3% de una mezcla de aceite de girasol y pescado (1 % aceite de pescado + 2% aceite girasol) en la ración de ovejas en lactación observó un mayor aumento en el contenido en VA y RA en la grasa de la leche que al incluir solo un 1 % de aceite de pescado comparado con una ración control sin grasa añadida (VA: 509% vs. 278%, RA: 442% vs. 259%).

3. Carne ovina

3.1. Canal y tipos comerciales

Según el artículo 2 del Reglamento (CEE) nº 2137/92 la canal ovina se define como el cuerpo entero del animal sacrificado tal como se presenta después de las operaciones de sangrado, eviscerado y desollado, sin cabeza (separada a nivel de la articulación occipito-atlantoides), patas (separadas a nivel de la articulación carpo-metacarpiana y tarso-metatarsiana), cola (separada entre la sexta y la séptima vértebra caudal), ubres, órganos sexuales, hígado ni asadura. Los riñones y la grasa de riñonada se incluyen en la canal.

Existe una gran diversidad en el peso y edad al sacrificio y, por tanto, en la canal de los corderos entre países, incluso dentro de cada país, debido en gran medida a las diferencias de genotipos y sistemas de producción empleados. Así, dentro de la Unión Europea se diferencian dos tipos principales de producción: en los países del Norte se producen corderos pesados, con un peso medio de canal de 20 kg, mientras que en los países de la cuenca mediterránea se producen corderos más ligeros, con una canal con un peso inferior a 13 kg y adquiere gran importancia la producción de cordero lechal procedente, tradicionalmente, de rebaños destinados a la producción de leche. Las diferencias en los tipos de corderos producidos determinan la dificultad para emplear un sistema de clasificación común para todos los estados miembros de la UE.

Según el Reglamento (CEE) nº 2137/92 las canales de ovino se clasifican en canales de menos de 12 meses de edad (cordero) y otras canales de ovino.

En España se distinguen, según el peso y la edad en el momento del sacrificio, cuatro categorías de carne ovina: lechal, ternasco, pascual y ovino mayor (Tabla 3.1.).

Las canales de cordero se clasifican en función de su conformación, siguiendo la escala S.E.U.R.O.P, y su cobertura grasa (escala 1-5). No obstante, en el caso de corderos cuyo peso de canal sea inferior a 13 kg, los Estados Miembros están autorizados a utilizar el peso de la canal, el color de la carne y la cobertura grasa (escala 1-4) como criterios para su clasificación (Tabla 3.2.).

Tabla 3.1. Categorías comerciales de la carne de ovino en España¹

Tipo comercial	Lechal	Ternasco	Pascual	Ovino Mayor
Canal (kg)	≤ 8	8 – 13	12 – 15	> 15
Edad (meses)	≤ 1,5	≤ 4	4 - 12	> 12
Alimentación	Láctea	Leche y Paja + Pienso	Pienso y Hierba o Pastoreo	

¹Tabla adaptada de la Orden de 18 de septiembre de 1975 (BOE 30/9/75)

Tabla 3.2. Clasificación de las canales con pesos inferiores a 13 kg según el Reglamento (CEE) n° 2137/92.

Categoría	A		B		C	
Peso	≤ 7 kg		7,1 - 10 kg		10,1 - 13 kg	
Calidad	Primera	Segunda	Primera	Segunda	Primera	Segunda
Color de la carne	Rosa pálido	Otro color	Rosa pálido	Otro Color	Rosa pálido	Otro Color
Cobertura grasa ¹	2 y 3	Otra cobertura	2 y 3	Otra Cobertura	2 y 3	Otra Cobertura

¹De acuerdo con una escala de cobertura grasa de 1 a 4.

En los últimos años para aumentar el consumo y el precio de la carne de cordero, se están realizando grandes esfuerzos para diferenciarla y hacerla más competitiva frente a carne de otras especies y sobre todo, frente a carne de corderos procedentes de otras regiones o países. Para defender el tipo de cordero ligero, tradicional en la Europa Mediterránea, se han creado diferentes Denominaciones de Calidad (Dimara et al., 2004; Bernués et al., 2012). En la actualidad en España existen nueve figuras de calidad relacionadas con la carne de cordero: Indicación geográfica protegida (I.G.P.) Ternasco de Aragón, I.G.P. Lechazo de Castilla y León, I.G.P. Cordero Manchego, I.G.P. Cordero de Navarra, I.G.P. Cordero de Extremadura, I.G.P. Cordero Segureño, marca de garantía

(M.G.) Lechazo de la Meseta Castellano-Leonesa, M.G. Cordero Selecto Certificado y M.G. Cordero Lechal del País Vasco.

El lechazo de Castilla y León debe cumplir una serie de requisitos (Resolución de 27 de mayo de 2011, de la Dirección General de Industria y Mercados Alimentarios, por la que se publica la modificación del pliego de condiciones de la Indicación Geográfica Protegida Lechazo de Castilla y León, BOE N° 152) entre los que destacan una edad al sacrificio inferior a 35 días, un peso de canal entre 4,5 y 7 kg y la alimentación que debe ser exclusivamente a base de leche materna. En este sentido, el desarrollo de estrategias de alimentación de las ovejas que permita mejorar la carne de cordero lechal desde un punto de vista nutricional y funcional presenta un gran interés.

3.2. Cantidad y calidad de la grasa de la carne

Tradicionalmente, la carne se ha considerado un alimento de gran valor nutricional, ya que proporciona gran cantidad de energía, proteína y nutrientes esenciales, como vitaminas, minerales, aminoácidos, ácidos grasos esenciales, etc. (Díaz et al., 2005). Sin embargo, la carne es la mayor fuente de grasa de la dieta y su alto contenido en SFA y bajo en PUFA ha sido relacionado con enfermedades cardiovasculares, hipertensión y algunos tipos de cáncer (ver apartado 1.3. Lípidos y salud). Por otra parte, la grasa de la carne contribuye de manera importante a la calidad tecnológica y sensorial de la carne, además de proveer de energía y ácidos grasos esenciales al organismo humano y facilitar la absorción de las vitaminas liposolubles (Beare-Rogers, 1988).

En la actualidad, existen evidencias científicas que han demostrado que algunos ácidos grasos como los PUFA n-3 y CLA presentan potenciales efectos beneficiosos para la salud humana (Wahle et al., 2004; Kouba y Mourot, 2011), lo que ha aumentado el interés por incrementar sus niveles en la carne. De hecho, la grasa de la carne de los rumiantes es una de las mayores fuentes naturales de CLA de la dieta (Joy et al., 2012a).

La carne de cordero (Tabla 3.3.) presenta un porcentaje de proteína parecido al resto de las especies, aunque su contenido en grasa es superior al de la carne de pollo y ternero e inferior a la de cerdo.

Tabla 3.3. Composición química media de la carne de diferentes especies ¹

	Ternero	Cordero	Cerdo	Pollo
Agua (%)	74,0	72,6	71,8	75,5
Proteína (%)	22,4	20,7	21,8	21,4
Grasa (%)	2,4	4,6	5,3	3,1
Cenizas (%)	1,2	1,5	1,0	1,0

¹ Datos tomados de Giráldez y Lavín (2007)

Como se puede observar en la Tabla 3.4., el contenido en proteína de los distintos tipos de carne de cordero se mantiene en torno al 20%. Sin embargo, el contenido en grasa del músculo aumenta a medida que lo hace el peso de sacrificio y la edad del animal. Esta tendencia es más notoria en el contenido de grasa subcutánea que en el de la grasa intramuscular (Carrasco et al., 2009; Juárez et al., 2009b; Zervas y Tsiplakou, 2011).

Tabla 3.4. Composición química del músculo *Longissimus* de los distintos tipos comerciales de corderos alimentados en condiciones similares

	Lechal ^a	Cordero ligero ^b	Ovino Mayor ^c
Agua (%)	76,31	73,28	70,63
Proteína (%)	22,75	20,64	20,64
Grasa (%)	2,47	3,87	8,62
Cenizas (%)	1,1	1,71	0,11

^a D'Alessandro et al., (2012); ^b Rodriguez (2005); ^c Murphy et al., (1994b)

Aunque la carne de cordero no es un alimento que se consuma a diario, éste consumo se realiza junto con los distintos depósitos grasos que forman parte de la pieza consumida, y por ello es importante conocer el tipo de ácidos grasos que están presentes en los diferentes depósitos grasos. La grasa intramuscular, localizada en las fibras musculares (Raes, et al., 2004), es la que presenta mayor importancia como alimento, ya que los PUFA de cadena larga n-3 y n-6 se localizan principalmente en los fosfolípidos presentes en el músculo (el 20-50% del total de ácidos grasos presentes en los fosfolípidos son, principalmente ácidos grasos de cadena larga de 18, 20 y 22 átomos de carbono y de 2 a 6 dobles enlaces) y, por otro lado, porque esta grasa no puede ser separada de la carne antes de ser consumida, como consecuencia de la creciente aversión hacia la grasa visible por parte del consumidor (Wood et al., 2008). Los ácidos

grasos del tejido adiposo (grasa subcutánea), principalmente SFA y MUFA, se acumulan en forma de triglicéridos o lípidos neutros (> 90 %).

Teniendo en cuenta lo señalado anteriormente, y que distintos autores han observado que la composición de la grasa intramuscular es diferente a la de otros depósitos grasos en la carne de cordero (Cañeque et al., 2005; Osorio et al., 2007b; Castro et al., 2005), en la Tabla 3.5. se puede observar el perfil en ácidos grasos de la grasa de la carne de cordero comparada con la de otras especies. Puesto que los datos son de experimentos con diferentes diseños, en los que el procedimiento experimental, las metodologías e instrumentos analíticos pueden diferir entre experimentos, hay que tener cuidado cuando consideremos diferencias entre especies, basadas en un relativamente pequeño número de experimentos.

La grasa de los rumiantes tiene, de manera natural, una mayor cantidad de SFA que la grasa de los animales monogástricos, debido a los procesos de biohidrogenación a los que se ven sometidos los lípidos de la dieta en el rumen (Zervas y Tsiplakou, 2011) y que ya se han explicado en el apartado 2.2. (Origen de la grasa y de los distintos ácidos grasos de la leche). La composición en ácidos grasos de la grasa intramuscular de los monogástricos es un reflejo de los ácidos grasos de la dieta, mientras que en rumiantes, los procesos de biohidrogenación de los FA de la dieta que tienen lugar en el rumen son los responsables de que las variaciones en el perfil de FA de la grasa intramuscular con respecto a la dieta sean mayores (Raes et al., 2004).

En la carne de cordero, al igual que en la carne de otras especies, los principales ácidos grasos la grasa intramuscular de mayor a menor son el ácido oleico (*cis*-9 C18:1), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) y linoleico (C18:2 n-6) (Tabla 3.5.). Los SFA incluyen principalmente el ácido mirístico (C14:0), C16:0 y C18:0, los MUFA principalmente el palmitoleico (*cis*-9 C16:1) y oleico, y los PUFA, principalmente el linoleico (C18:2 n-6) y α -linolénico (C18:3 n-3).

Tabla 3.5. Perfil de ácidos grasos (% total de ácidos grasos) de la carne de diferentes especies (los valores son la suma de los ácidos grasos en los fosfolípidos y en los triglicéridos).

	Vacuno			Cordero		Cabrito lechal ^{f3}	Cerdo ^{g1}	Pollo ^{h5}	Conejo ⁱ³
	Ternera ^{a1}	Añojo ^{b2}	Lechal ^{c3}	Ternasco ^{d1}	Ovino Mayor ^{e4}				
C14:0	3,16	2,58	4,11	2,64		3,14	1,33	0,77	2,07
C16:0	23,92	26,2	19,33	23,75	22,3	24,94	23,2	22,34	25,78
C16:0 <i>cis</i> -9	2,88	3,76	1,13	1,41	1,73	1,37	2,71	2,23	0,39
C17:0	0,73	0,95	0,75					0,30	0,44
C18:0	14,16	12,0	12,02	16,39	11,5	15,08	12,2	8,04	5,94
Σ <i>trans</i> C18:1		3,62		3,54					
<i>trans</i> -10 C18:1	0,14	1,74			1,25				
<i>trans</i> -11 C18:1 (VA)	0,65	0,64	1,48		0,54	0,76			0,78
<i>cis</i> -9 C18:1	30,85	35,8	29,28	36,97	35,1	35,92	32,8	30,44	24,71
C18:2 n-6	4,26	2,67	10,97	5,99	9,61	8,41	14,2	25,13	23,21
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 C18:2 (RA)	0,30	0,33	1,13	0,35	0,05	0,56			
<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 C18:2		0,01	0,06	0,06	0,03	0,09			
C18:3 n-3	0,81	0,36	1,95	0,44	0,56	0,14	0,95	1,24	7,79
C20:5	0,42	0,13	1,65	0,51	0,25	0,28	0,31		0,023
C22:5	0,67	0,33	2,34	0,80	0,63	0,81	0,62		
C22:6	1,97	0,07	1,25	0,42	0,14		0,39	0,20	0,084
SFA	42,90	43,4	37,73	42,97	35,8	44,45	36,85	32,14	
MUFA	35,08	48,6	34,89	43,72	42,9	39,70	39,5	35,26	
PUFA	9,67	6,10	27,38	13,30	16,7	15,63	19,9	29,11	
n-6/n-3	1,58	4,11	2,61	14,9 ⁶	9,86	6,63	7,3		

^a Pestana et al. (2012); ^b Juárez et al. (2011); ^c Lanza et al. (2006); ^d Manso et al. (2009); ^e Berthelot et al. (2010); ^f Juárez et al. (2009a); ^g Enser et al. (1996); ^h De Marchi et al. (2012); ⁱ Peireti (2012); ¹ *Longissimus lumborum*; ² *Longissimus thoracis*; ³ *Longissimus dorsi*; ⁴ *Extensor carpi radialis*; ⁵ *Pectoralis major*; ⁶ C18:2/C18:3.

En animales jóvenes con poca grasa, como la ternera y los corderos lactantes, se observa un menor contenido en ácido oleico (predominante en el tejido adiposo) y un mayor contenido en C18:2 n-6 (mayoritario en los fosfolípidos) que en animales de mayor edad y peso (Tabla 3.5.). En animales jóvenes tiene mayor influencia la composición en ácidos grasos de los fosfolípidos sobre el perfil de FA total de la carne, mientras que a medida que aumenta la grasa corporal la composición de los triglicéridos predomina en la composición total de ácidos grasos (Wood et al., 2008).

Las diferencias en la tasa de biohidrogenación en el rumen de los ácidos grasos C18:2 n-6 y C18:3 n-3 observadas por Doreau y Ferlay (1994), podrían explicar, en parte, la mayor cantidad de dichos ácidos grasos en la carne de los rumiantes (Tabla 3.5.). Estos autores observaron mayor biohidrogenación del C18:3 n-3 de la dieta (85-100%) que del C18:2 n-6 (70-95%), por lo tanto el C18:2 n-6 estuvo más disponible para la incorporación en los tejidos. Además, Wood et al. (2008), en una revisión sobre la composición en ácidos grasos de la carne, han señalado que el ácido graso C18:2 n-6 se incorpora más rápidamente en los fosfolípidos que el C18:3 n-3, y por lo tanto alcanza mayores valores.

En la grasa de la carne de los rumiantes se han encontrado ácidos grasos de cadena impar y ramificada, además de determinados ácidos grasos *trans* e isómeros posicionales de los ácidos grasos C18:1 y C18:2 y originados en los procesos de biohidrogenación en el rumen, como son el ácido vacénico (VA) y el ácido ruménico (RA) (Enser et al., 1996; Rhee, 1992). Aunque el RA se produce en el rumen, su contenido en los tejidos animales depende de la síntesis a partir de VA por la acción de la enzima Δ^9 -*desaturasa* (*stearoyl Co-A desaturasa*) en el tejido adiposo (Scollan et al., 2006). Esta enzima también es la responsable de la síntesis de ácido oleico a partir de ácido esteárico (Figura 3.1.). Tanto el ácido oleico, como el VA y el RA se encuentran en mayor proporción en los triglicéridos que en los fosfolípidos y en el tejido adiposo más que en el muscular (Wood et al., 2008).

La mayor concentración de VA y RA se ha observado en la carne de cordero lechal (1,48 y 1,13 % del total de FA), seguida de la carne de cabrito lechal (0,76 y 0,56% del total de FA).

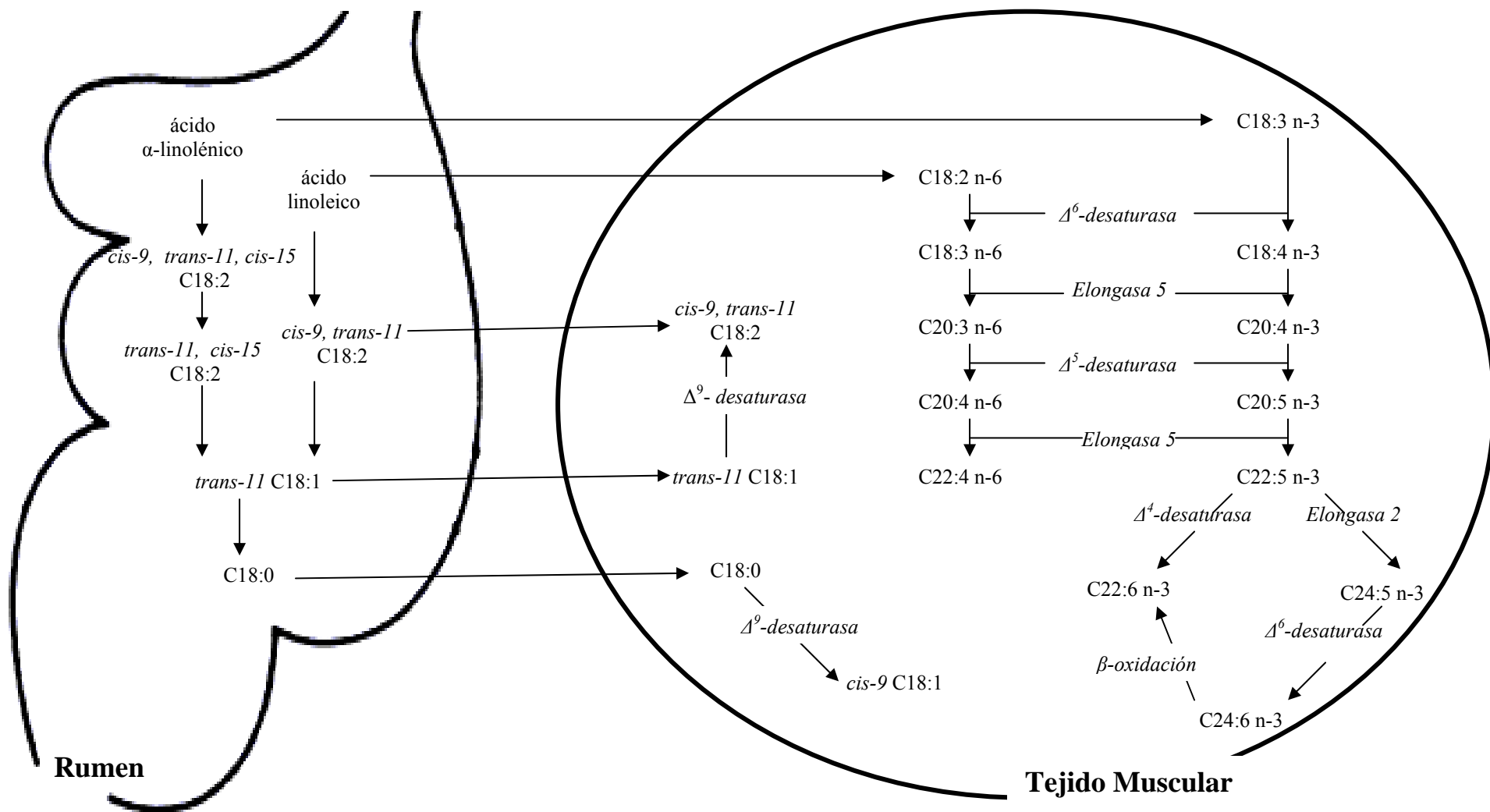


Figura 3.1. Origen de algunos de los ácidos grasos presentes en la grasa intramuscular de la carne (Schmid et al., 2006; Raes et al., 2004; Wood et al., 2008; Cherfaoui et al., 2012).

Diversos estudios han demostrado la relación existente entre la composición de la leche de la oveja y el perfil de ácidos grasos de la carne de corderos lactantes (Scerra et al., 2007; Lurueña-Martínez et al., 2010; Manso et al., 2011). Las diferencias observadas en el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular de los corderos lactantes, son un reflejo de las encontradas en la grasa de la leche de las ovejas, principalmente debido a que los corderos se alimentaran exclusivamente con leche materna hasta su sacrificio y a que la fisiología digestiva de los corderos lactantes es similar a la de animales monogástricos.

Como se ha explicado anteriormente, la composición de los lípidos de la carne no depende exclusivamente de los ácidos grasos absorbidos en el intestino, sino que el metabolismo de los lípidos en los tejidos puede influir en la composición de la grasa de la carne. Así, se observan concentraciones importantes en el músculo del cordero lechal de PUFA de cadena larga (C20-22), cuya proporción en los fosfolípidos está estrictamente controlada por un complejo sistema enzimático, basado en *desaturasas* y *elongasas*, que convierten los ácidos grasos C18:2 n-6 y C18:3 n-3 en estos PUFA de cadena larga (Figura 3.1.). Estas enzimas actúan sobre los PUFA n-3 y n-6, pero hay estudios que sugieren que tienen preferencia hacia los n-3 (Williams y Burdge, 2006).

Estudios metabólicos llevados a cabo en roedores han identificado varios de los pasos involucrados en la conversión del ácido C18:3 n-3 a DHA (C22:6 n-3). Esta biosíntesis se realiza a través de pasos alternos de desaturación y elongación, seguidos de un paso final de peroxisomal β -oxidación (Figura 3.1.). Estos pasos involucran principalmente la actividad de dos *desaturasas* (Δ^5 y Δ^6 -*desaturasas*), dos *elongasas* (*elongasa 2* y *5*) y las enzimas de la peroxisomal β -oxidación (Ferdinandusse et al., 2001; Nakamura et al., 2004; Jakobsson et al., 2006).

Sprecher et al. (1995) propusieron una ruta alternativa más sencilla para la biosíntesis de DHA a partir de ácido α -linolénico, en el que la enzima Δ^4 -*desaturasa* sintetiza directamente DHA a partir del ácido DPA (C22:5 n-3).

Estudios recientes han señalado que el isómero *trans-10, cis-12* C18:2 podría interferir en los caminos de elongación-desaturación de los ácidos linoleico y α -linolénico involucrados en la síntesis de C22:4 n-6 y C22:6 n-3 en los tejidos, al inhibir la actividad de la enzima Δ^6 -*desaturasa* (Hargrave-Barnes et al., 2008; Lin et al., 2011).

Desde un punto de vista nutricional dentro de las carnes de las distintas especies, la grasa de la carne de cordero lechal es una de las que presenta una relación PUFA/SFA y n-6/n-3 más saludable (Scerra et al., 2007; Joy et al., 2012b). Las recomendaciones para las relaciones PUFA/SFA y n-6/n-3 de la carne para el consumo humano sugieren unos valores superiores a 0,4 e inferiores a 4 respectivamente (Wachira et al., 2002; Wood et al., 2003).

3.3. Factores que influyen en la cantidad y calidad de la grasa de la carne de lechazo

Tradicionalmente, en la mayoría de los países del área mediterránea se sacrifican corderos de razas de aptitud mixta (carne-leche) a pesos muy bajos (8-12 kg), reduciéndose su etapa productiva a la fase de lactancia (corderos lechales). Estos corderos ofrecen una carne de alta calidad, con un alto contenido en humedad, bajo contenido en grasa, un color rosa pálido, de sabor suave y tierna (Martínez-Cerezo et al., 2005; Teixeira et al., 2005), fuertemente demandada por los consumidores y que alcanza precios elevados, sobre todo en ciertas épocas del año (Sañudo et al., 2000; Díaz et al., 2003). Los lechazos se alimentan exclusivamente a base de leche materna o sustitutivos lácteos hasta su sacrificio y, debido a que presentan un rumen no funcional, los ácidos grasos de la leche ingerida no sufren los procesos de biohidrogenación que tienen lugar en los rumiantes.

La cantidad y la calidad de la grasa afecta de manera importante a la calidad de la carne de cordero, y puede verse influenciada por distintos factores no nutritivos (raza, edad, peso, sexo y posición anatómica del depósito de grasa) y nutritivos (Sañudo et al., 1998). El sistema de producción que combina los efectos de raza y de la dieta, es el principal factor que explica las variaciones en el perfil de ácidos grasos de la carne (Juárez et al., 2008).

3.3.1. Factores no nutritivos

3.3.1.1. Factores genéticos

La raza es un factor determinante de la composición de la grasa de la leche de oveja (ver apartado 2.3.1.1.) como de la grasa contenida en la carne de cordero lechal (Vacca et al., 2008; Juárez et al., 2009b; Wilches et al., 2011).

Juárez et al. (2009b) encontraron diferencias significativas en el contenido y la composición de la grasa intramuscular de la carne de cordero lechal de dos razas distintas, una de aptitud lechera y otra de aptitud cárnica, alimentadas con la misma ración. Los corderos de la raza de aptitud lechera presentaron un mayor contenido en grasa en el músculo, debido a la mayor producción y contenido en grasa de la leche de las ovejas. Además, las diferencias en la precocidad hacen que los corderos de razas de aptitud lechera depositen grasa intramuscular más tempranamente y en mayor cantidad que las razas de aptitud cárnica (Callow, 1962; Díaz et al., 2003). Kosulwat et al. (2003) observaron en corderos ligeros que el grado de engrasamiento influye en la composición de la grasa de los corderos, observando un descenso en el índice PUFA/SFA al aumentar el engrasamiento de la canal, es decir al aumentar los depósitos grasos de la canal donde se acumulan principalmente los ácidos grasos saturados (grasa intermuscular y subcutánea).

Estudios realizados en ganado vacuno han observado que la actividad de las enzimas Δ^9 -desaturasa y *elongasas* del músculo difieren entre razas de aptitud cárnica y aptitud lechera, lo que podría explicar, al menos en parte, las diferencias observadas en el contenido en CLA de la grasa intramuscular de vacas de las razas Charolais y Holstein (De La Torre et al., 2006). Juárez et al. (2008) observaron también esta influencia de la raza sobre la actividad de la enzima Δ^9 -desaturasa en corderos ligeros.

3.3.1.2. Edad y peso

En las Tablas 3.4. y 3.5. se observa el efecto que la edad y el peso al sacrificio tienen sobre la cantidad y calidad de la grasa de la carne de cordero. La mayoría de los trabajos que estudian el efecto del peso al sacrificio sobre la calidad de la carne de cordero lo hacen con pesos vivos al sacrificio superiores a 12 kg o comparando corderos lechales con corderos con pesos superiores a 12 kg (Beriain et al., 2000; Santos-Silva et al., 2002; Juárez et al., 2009b). Sin embargo, existen trabajos que estudian el efecto que distintos pesos al sacrificio de corderos lechales tienen sobre la calidad de la grasa de la carne (Díaz et al., 2003).

A medida que aumenta el peso y edad al sacrificio aumenta también la cantidad de grasa en el músculo (Nürnberg et al., 1998), pero en menor proporción que lo hace la grasa subcutánea (Murphy et al., 1994a). A medida que los animales crecen, los

depósitos de grasa aumentan principalmente a través de un aumento en el tamaño de las células, con un descenso en la proporción de agua y de tejido conectivo (Zervas and Tsiplakou, 2011). Juárez et al. (2009b) en corderos lechales, observaron que al aumentar el peso vivo del animal de 11 a 20 kg, se incrementó en un 36% el contenido en grasa del músculo *Longissimus dorsi*. Del mismo modo, Beriain et al. (2000) observaron que al aumentar el peso vivo del animal de 12 a 24 y a 36 kg, se incrementó el contenido en grasa del músculo en un 38 y 75 % respectivamente.

Diversos autores han observado que el aumento del peso vivo del animal supone una mayor concentración en ácidos grasos insaturados de la grasa intramuscular, generalmente MUFA y un descenso en PUFA (Díaz et al., 2002; Beriain et al., 2000) siendo este efecto más marcado cuando los animales son criados de forma intensiva (Wahle et al., 1978). El aumento en MUFA podría ser debido a un aumento en la actividad de la enzima Δ^9 -desaturasa en los corderos más pesados (Jackson y Winkler, 1970). A este respecto, en el trabajo de Santos-Silva et al. (2002) se observa un incremento de un 10, 16 y 7% en el contenido de C16:1, *trans* C18:1 y *cis*-9 C18:1 respectivamente y un descenso de un 6, 19, 19 y 26% en el contenido de C18:3 n-3, EPA, DPA y DHA respectivamente, en la grasa intramuscular, cuando se incrementa el peso vivo de los animales de 24 a 30 kg. Al aumentar la edad y peso de los corderos, el contenido en fosfolípidos permanece constante mientras que el de triglicéridos aumenta, lo que podría explicar el descenso en el contenido en PUFA de la grasa intramuscular (Link et al., 1970).

Los corderos lechales presentan una mayor cantidad de ácidos grasos saturados láurico y mirístico, que los corderos de más peso y sacrificados en etapas posteriores al destete, debido a que estos ácidos grasos están presentes en gran cantidad en la leche materna (García and Coll, 1976). Los corderos lechales se comportan como monogástricos, y por lo tanto el perfil de ácidos grasos de los depósitos grasos refleja la composición de la grasa de la leche ingerida de una forma directa. Tan pronto como los corderos empiezan a tomar alimento sólido después del destete, se observa una fuerte caída en la concentración relativa de estos ácidos grasos (Beriain et al., 2000). También, tras el destete, se incrementa el contenido en los ácidos grasos de cadena impar por la síntesis *de novo* que tiene lugar al iniciarse la actividad de los microorganismos del rumen, y explica que en los corderos lechales el contenido en este tipo de ácidos grasos sea muy reducido (Sauvant et al., 1979).

Los corderos lechales, a pesar de ser animales muy jóvenes y sacrificados a pesos muy bajos, empiezan a desarrollar su tejido adiposo antes del sacrificio. Velasco et al. (2000) y Díaz et al. (2003) observaron que el engrasamiento de la canal aumenta significativamente cuando el peso vivo de los corderos lechales pasa de 10 a 12 kg. Sin embargo, estos autores observaron que el peso al sacrificio casi no tuvo influencia sobre la composición en ácidos grasos tanto de la grasa subcutánea como de la grasa intramuscular, principalmente debido a que el intervalo entre pesos fue muy pequeño y en ambos casos se trataba de corderos en la etapa prerumiante. Además, en animales tan jóvenes, el peso al sacrificio, influye en mayor medida sobre la calidad de la canal, que sobre la calidad de la carne (Sañudo et al., 1998; Bianchi et al., 2006; Juárez et al., 2009a).

3.3.1.3. Sexo

El efecto que el sexo tiene sobre la cantidad y calidad de la grasa de la carne de cordero difiere según los autores y el peso de sacrificio. En corderos lechales, Miguélez et al. (2008) y Dervishi et al. (2012) no observaron diferencias estadísticamente significativas, entre machos y hembras ni en el contenido de grasa intramuscular del músculo *Longissimus dorsi* ni en su perfil de ácidos grasos. Sin embargo, Díaz et al. (2003) observaron en corderos lechales que las hembras muestran una mayor tendencia a acumular grasa y una mayor proporción de MUFA en la grasa intramuscular que los machos, principalmente debido al mayor contenido en ácido oleico y palmitoleico. Según estos autores, los machos presentaron un mayor contenido en SFA que las hembras y no se observaron diferencias en el contenido en PUFA entre sexos.

3.3.1.4. Posición anatómica del depósito graso

Tanto la cantidad como la composición de los depósitos grasos influye en la calidad de la canal y de la carne de cordero (Melton, 1990; Bas y Morand-Fehr, 2000; Pérez et al., 2002). Así, la grasa corporal localizada en los depósitos grasos internos (mesentérico, omental y pélvico-renal), que no son consumidos de manera directa con la carne, son indicadores del engrasamiento del animal y la grasa pélvico-renal influye en la valoración de la canal (Juárez et al., 2008) y los depósitos grasos relacionados con la carne, como son la grasa subcutánea, intermuscular y la intramuscular, afectan significativamente al flavor, jugosidad y textura de la carne (Wood, 1984).

La localización anatómica del depósito graso se ha señalado como uno de los factores con mayor influencia sobre el perfil de ácidos grasos (Juárez et al., 2008).

Los tejidos adiposos se caracterizan por su índice de saturación (contenido total de ácidos grasos saturados), el cual está relacionado con la localización del tejido ya que los puntos de fusión son más bajos en los tejidos con mayor exposición a las temperaturas ambientales (Cramer y Marchello, 1963; Bas et al., 1987). Así, Bas y Morand-Fehr (2000) encontraron diferencias en el índice de saturación debidas al lugar de localización de la grasa subcutánea, presentando la grasa subcutánea de la espalda una menor saturación ya que está más expuesta a las temperaturas exteriores que la de cola, que a su vez fué menos saturada que la grasa de la zona inguinal. En corderos lechales también se ha observado que los depósitos grasos internos y la grasa subcutánea presentan una mayor proporción de SFA y menor de PUFA en comparación con la grasa intramuscular (Osorio et al., 2007a y b; Manso et al., 2011). Todas estas diferencias han sido atribuidas al gradiente de temperatura corporal, localizándose la grasa más saturada con alto punto de fusión en los depósitos internos, donde la temperatura corporal es más elevada (Marchello et al., 1967).

Osorio et al. (2007b) y Manso et al. (2011) observaron en corderos lechales de raza Churra mayor contenido en PUFA en la grasa intramuscular (26,05 y 19,65 % del total de ácidos grasos) que en la subcutánea (4,45 y 6,84 % del total de ácidos grasos). Estas diferencias son debidas a que la proporción de fosfolípidos, con alto contenido en PUFA, se encuentra mayoritariamente en las membranas de las células de la grasa intramuscular.

Algunos autores han sugerido una mayor síntesis endógena de RA en el músculo que en la grasa subcutánea (Palmquist et al., 2004) mientras que otros han observado un contenido menor en RA en el músculo que en la grasa subcutánea (Osorio et al., 2007b; Nudda et al., 2008; Manso et al., 2011). La localización y el tipo de depósito graso son factores que influyen fuertemente en la actividad de la enzima Δ^9 -desaturasa (Moibi y Christopherson, 2001; Juárez et al., 2008) encargada de sintetizar RA a partir de VA en los tejidos. Moibi y Christopherson (2001) sugirieron mayor actividad de la enzima Δ^9 -desaturasa en la grasa subcutánea que en los depósitos mesentérico y peri-renal al observar un mayor contenido en C18:1.

La grasa intramuscular de los corderos presenta un elevado contenido en PUFA de cadena larga en comparación con otros depósitos grasos. Así, Manso et al. (2011) observaron un contenido en EPA (C20:5 n-3) y AA (C20:4 n-6), 25 y 30 veces mayor respectivamente en la grasa intramuscular que en la grasa subcutánea de corderos lechales. Estos FA se incorporan principalmente en la fracción de fosfolípidos del músculo, y se encuentran en menores cantidades en los triglicéridos del tejido adiposo (Sanz Sampelayo et al., 2006). Juárez et al. (2008) señalaron que el 83% de la variación del contenido en AA en los corderos era debido a la localización anatómica del depósito graso.

3.3.2. Factores nutritivos

3.3.2.1. Lactancia natural vs. lactancia artificial

Como se ha expuesto en apartados anteriores, los corderos lechales se alimentan exclusivamente de leche hasta su sacrificio (8-14 kg peso vivo) y son considerados “monogástricos funcionales” ya que no tienen funcionalmente desarrollado el rumen, y por lo tanto, no se produce la biohidrogenación ruminal de los FA de la leche antes de ser absorbidos a nivel intestinal. Este hecho sugiere que las diferencias en el perfil de ácidos grasos de la carne de los corderos tienden a reflejar el perfil de ácidos grasos de la leche consumida, ya sea natural o artificial.

En la Europa Mediterránea para aumentar la rentabilidad de las explotaciones de ovino lechero se está optando por el sistema de lactancia artificial frente al de lactancia natural de los corderos, debido principalmente y a que el precio de la leche de oveja es muy superior al de los lacto-reemplazantes (Osorio et al., 2003). Este hecho hace que la producción de leche destinada a la fabricación de quesos aumente y, además, se garantice la supervivencia comprometida de algunos corderos lechales cuando la oveja muere tras el parto o en el caso de partos múltiples (Lewis et al., 2008). Sin embargo, el empleo de lacto-reemplazantes se excluye como práctica permitida en algunas de las normativas de calidad de carne de cordero lechal en España como son las I.G.P. de “Lechazo de Castilla y León” y “Cordero de Navarra”.

Los lacto-reemplazantes están formulados generalmente a partir de leche de vaca descremada a la que se incorporan diferentes fuentes de grasa, principalmente de origen vegetal, con un perfil de FA distinto al de la leche natural. El perfil de ácidos grasos de

los lacto-reemplazantes dependen de la grasa vegetal añadida. Los aceites de coco y palma son los más empleados, ya que los ácidos grasos de cadena corta y media presentes en estas grasas, son bien digeridos por los corderos incluso con un bajo peso al nacimiento.

Tal y como se puede comprobar en la Tabla 3.6., las mayores diferencias en la grasa de las dos fuentes de leche se han observado en los FA de cadena impar y en el contenido de FA ramificados, que son de tres a diez veces mayores en la grasa de la leche natural que en los sustitutivos lácteos empleados en la lactancia artificial. En términos generales se observa un mayor contenido en SFA y menor en MUFA y PUFA en la grasa de la leche de oveja que en la de los lacto-reemplazantes. La grasa de la leche de oveja es más rica en FA n-3 (principalmente C18:3 n-3), y la grasa de los lacto-reemplazantes es más rica en FA n-6 (C18:2 n-6), dependiendo de la fuente lipídica incorporada en los sustitutivos lácteos.

Tabla 3.6. Intervalos de variación del perfil de ácidos grasos de la grasa de la leche de oveja y de los lacto-reemplazantes (% total de los ácidos grasos).

	Leche Materna	Lacto-reemplazante
C4:0	2,48 - 7,68	nd - 1,47
C6:0	2,09 - 2,97	0,19 - 0,49
C8:0	2,25 - 2,77	1,5 - 3,3
C10:0	6,42 - 9,12	1,41 - 3,31
C12:0	3,73 - 4,74	9,67 - 20,82
C14:0	9,57 - 11,01	6,53 - 8,89
C14:1	nd - 0,23	nd - 0,19
C15:0	1,01 - 1,47	0,1 - 0,28
C16:0	21,81 - 28,07	19,33 - 21,88
C16:1	0,72 - 1,36	0,43 - 2,5
C18:0	10,1 - 12,43	10,14 - 13,56
Σ <i>trans</i> C18:1	1,94 - 3,82	nd - 1,94
C18:1 n-9	18,35 - 21,55	21,86 - 25,02
C18:2 n-6	1,55 - 1,66	4,71 - 8,3
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 C18:2	0,99 - 1,23	0,38 - 0,5
C18:3 n-3 α -linolenic	0,97 - 2,81	0,25 - 1,07
SFA	66,37 - 72,38	60,04 - 66,15
MUFA	20,07 - 24,36	23,27 - 33,66
PUFA	5,69 - 6,19	7,2 - 10,12
n-6/n-3	0,59 - 3,37	4,39 - 24,21

Datos tomados de Napolitano et al., 2002; Lanza et al., 2006; Osorio et al., 2007b

nd, no detectable

Las diferencias en el perfil de ácidos grasos de la leche de oveja y de los sustitutivos lácteos se traducen en diferencias en la composición de la grasa intramuscular de la carne del cordero lechal (Tabla 3.7.).

Diversos autores han observado que la grasa de los animales alimentados con leche natural es más saturada, y presenta un contenido mayor en ácido α -linolénico y una mejor relación n-6/n-3 que la grasa de los corderos alimentados con lacto-reemplazantes (Tabla 3.7.). Lanza et al. (2006) en corderos lechales de raza Barbaresca observaron un contenido significativamente mayor de VA y RA en la grasa intramuscular de los corderos alimentados con leche materna que en los alimentados con lacto-reemplazantes elaborados, con una mezcla de aceites vegetales y grasas animales como fuente lipídica. Estas diferencias podrían ser debidas a la concentración de RA y VA en la grasa de la leche y en los lacto-reemplazantes.

Tabla 3.7. Perfil de FA de la grasa intramuscular de corderos lactantes alimentados con distintas fuentes de leche (natural o artificial)(g/100 total de ácidos grasos)¹.

	Lanza et al. (2006)		Osorio et al. (2007b)	
	Leche oveja	Lacto-reemplazante	Leche oveja	Lacto-reemplazante
C16:0	19,33**	17,54	18,10*	16,61
C18:0	12,02	11,64	12,53***	8,37
<i>cis</i> -9 C18:1	29,28*	26,38	31,57***	36,14
<i>trans</i> -11 C18:1	1,48***	0,26	-	-
C18:2 n-6	10,97***	18,47	8,44	8,01
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 C18:2	1,13***	0,47	0,51	0,67
<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 C18:2	0,06	0,05	-	-
C18:3 n-3	1,95***	0,37	1,30***	0,12
C20:4 n-6 (AA)	6,89***	10,00	4,86***	2,36
C20:5 n-3 (EPA)	1,65***	0,80	1,44**	0,30
C22:5 n-3 (DPA)	2,34***	1,18	-	-
C22:6 n-3 (DHA)	1,25***	0,53	-	-
SFA	37,63**	34,10	40,47***	33,97
MUFA	34,89	33,32	39,90***	49,89
PUFA	27,38**	32,56	19,65***	16,26
PUFA n-3	18,92***	29,07	3,09***	0,70
PUFA n-6	7,26***	3,00	14,36**	11,13
n-6/n-3	2,61***	9,70	5,23***	16,32

¹ *, (P<0,05); **, (P<0,01); ***, (P<0,001) en los datos de cada trabajo

Diversos autores, han observado un alto coeficiente de correlación entre el contenido de VA de la grasa de la leche y de la grasa de la carne de los corderos lactantes, lo que sugiere que la concentración de este FA en la carne esté fuertemente afectado por su concentración en la leche (Nudda et al., 2008; Manso et al., 2011). Como se puede observar en la Figura 3.2. la concentración de RA en la grasa de la carne tanto de corderos como de cabritos lechales es el doble que la concentración en la grasa de la leche consumida. El RA en la carne se deriva por un lado de la dieta y por otro lado de la síntesis endógena a partir de VA, a través de la acción de la enzima Δ^9 -desaturasa (Grinari et al., 2000), lo que explica las diferencias señaladas.

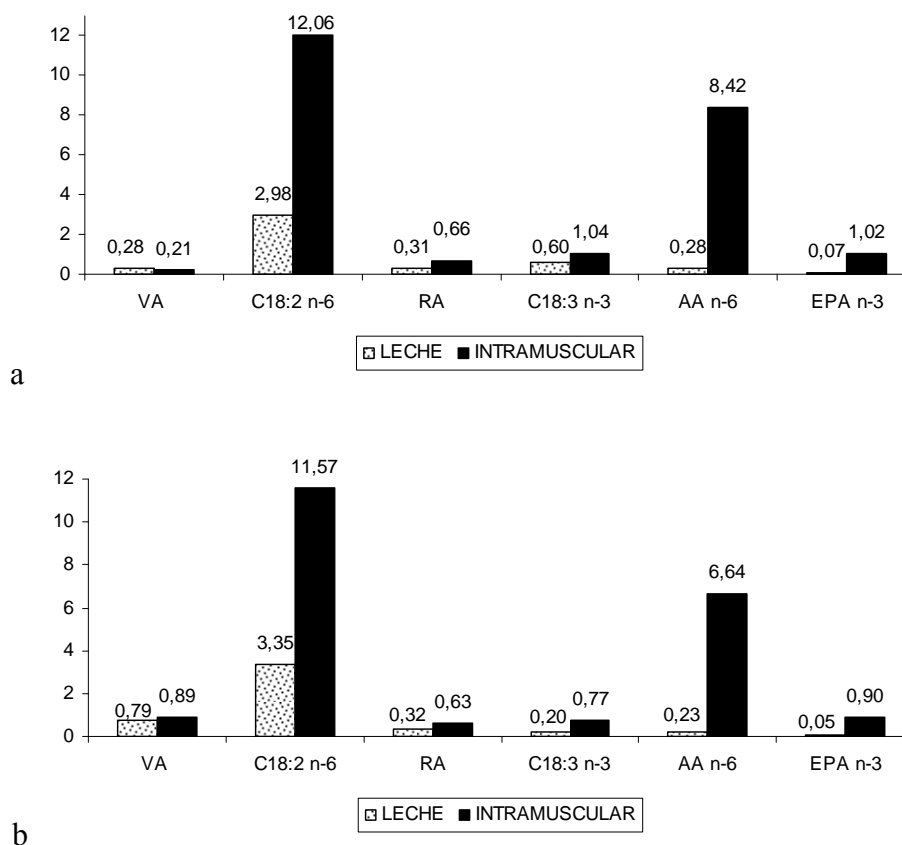


Figura 3.2. Comparación del contenido de algunos FA de la grasa de la leche de oveja y cabra y en la grasa intramuscular de la carne de corderos y cabritos lactantes alimentados exclusivamente con leche materna (a: Manso et al., 2011 y b: Nudda et al., 2008).

Numerosos estudios han documentado que la concentración de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga es mucho mayor en la grasa intramuscular de los corderos lactantes que en la grasa de la leche consumida (ver figura 3.2.), debido

principalmente a que la incorporación de estos ácidos grasos tiene lugar a nivel de los fosfolípidos y, dado que su porcentaje es mucho mayor en el músculo que en la leche, podría explicar su mayor concentración en la grasa intramuscular (Sanz Sampelayo et al., 2006; Manso et al., 2011).

En apartados anteriores se ha revisado como la composición de la grasa de la leche de oveja varía al modificar la dieta (ver apartado 2.3.2.1.) y sobre todo con la suplementación lipídica (ver apartado 2.3.2.2.). Asimismo, diversos autores han evaluado el efecto que la dieta de la oveja tiene sobre el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular de los corderos lechales (Scerra et al., 2007; Manso et al., 2011; Joy et al., 2012b).

El acceso de las ovejas al pastoreo tiene un efecto positivo sobre el perfil de ácidos grasos de la carne de los corderos lechales, con aumentos en los contenidos en VA, RA, y PUFA n-3 de cadena larga de la grasa intramuscular (Scerra et al., 2007; Joy et al., 2012b). Estos autores observaron un aumento significativo en el contenido en ALA (+75% y +25% respectivamente), EPA (+30% y +40%) y DPA (+12% y +27%) de la grasa intramuscular de corderos lechales cuyas madres se alimentaron en pastoreo en comparación con los corderos cuyas madres se mantuvieron estabuladas, como reflejo del mayor contenido en ALA de la leche de las ovejas en pastoreo (4,46% y 2,07% de total de ácidos grasos) frente a las que se mantuvieron estabuladas (2,60% y 1,65% del total de ácidos grasos).

El tipo de grasa incorporada en la dieta de las ovejas constituye una de las mayores fuentes de variación del perfil de ácidos grasos de la carne de los corderos lechales (Capper et al., 2007; Lurueña-Martinez et al., 2010; Manso et al., 2011). De tal manera que, suplementar la dieta de ovejas con grasas altamente insaturadas que modifiquen, desde el punto de vista de la salud humana, el perfil de ácidos grasos de la leche podría ser una estrategia para mejorar de manera natural el perfil de ácidos grasos de la carne de los corderos lechales producidos. Así, Manso et al. (2011) al suplementar la dieta de ovejas con un 3% de aceite de soja o aceite de lino encontraron incrementos significativos en el nivel de VA y RA en la grasa subcutánea e intramuscular de los corderos lechales, como resultado del contenido en VA y RA de la leche consumida, cuando se compararon con una dieta suplementada con un 3 % de aceite de palma. Sin embargo, como ya hemos dicho en apartados anteriores (ver apartado 3.2.), el RA de los

tejidos animales no solo proviene de la dieta, en este caso leche materna, sino que puede ser sintetizado en los tejidos de manera endógena a partir del VA de la dieta (Figura 3.1.). Además al incluir aceite de lino, con un alto contenido en ALA (51,3%), en la ración de las ovejas aumentó significativamente el contenido en ALA y PUFA n-3 de la grasa de los corderos lechales. Similares efectos han sido observados en cabritos lechales por Nudda et al. (2008) al suministrar semilla extrusionada de lino en la ración de cabras en inicio de lactación. Asimismo, las dietas ricas en ALA aumentan el nivel de EPA en la carne por desaturación y elongación del ALA en los tejidos (Raes et al., 2004).

Son escasos los trabajos en ganado ovino que evalúen el efecto de la suplementación de la dieta de ovejas en inicio de lactación con grasas de origen marino, ricas en PUFA n-3 de cadena larga, sobre el perfil de ácidos grasos de la carne de los corderos lechales producidos. Capper et al. (2007) observaron aumentos significativos en el nivel de EPA (+400%) y DHA (+300%) en el plasma de corderos lechales cuyas madres habían sido suplementadas con un 6% de una mezcla protegida de aceite de pescado y un producto comercial rico en PUFA n-3 de cadena larga, con respecto a una ración con jabón cálcico de aceite de palma. Sanz Sampelayo et al. (2006) observaron, al suministrar un 8.3% de un aceite de pescado protegido a la ración de cabras al inicio de lactación, un aumento significativo en los niveles de EPA (+278%), DPA (+42%), DHA (+228%) y PUFA n-3 (+101%) de la grasa intramuscular de los cabritos lechales, en comparación con una ración sin grasa añadida.

3.3.2.2. Empleo de antioxidantes en la carne ovina: vitamina E

Actualmente existe un gran interés por incrementar en la carne de cordero el contenido en PUFA en general y de ácidos grasos asociados a efectos beneficiosos sobre la salud humana como el CLA y los PUFA n-3 (ver apartados 2.3.2 y 3.3.2) en particular. El aumento en el grado de insaturación de la grasa de los corderos, la hace también más susceptible a la oxidación (Salvatori et al., 2004), con los efectos negativos que ello conlleva sobre la calidad de la carne. Así, la peroxidación lipídica limita la aceptación de la carne por parte del consumidor (Aalhus y Dugan, 2004), ya que las reacciones de oxidación lipídica que se generan en el músculo, dan lugar a aromas rancios indeseables, coloraciones oscuras, reducción de la capacidad de retención de agua y, aumentos en la cantidad de exudado, que afectan a la jugosidad de la carne, a la

percepción del color, a la sensación de dureza, a la composición química del músculo y, como consecuencia, a su valor nutritivo. Además, la ingestión de radicales libres y de otros productos derivados de la oxidación lipídica, parece estar relacionada con el desarrollo de enfermedades graves en los consumidores tales como el cáncer, la arteriosclerosis, problemas cardiovasculares y el Alzheimer (Abheri et al., 2010).

Una de las medidas que se utilizan para evaluar la oxidación de los lípidos de la carne a nivel bioquímico, es la cuantificación de los compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico (TBARS), sustancia originada durante los procesos de oxidación de los lípidos. Estudios llevados a cabo en corderos han puesto de manifiesto que al aumentar significativamente el contenido de determinados PUFA n-3 en el músculo, como el EPA y el DHA, se reduce la estabilidad oxidativa de la carne al aumentar el contenido en TBARS de la misma (Nute et al., 2007; Moloney et al., 2012), observándose correlaciones positivas entre el contenido en PUFA n-3 del músculo de corderos y el nivel de oxidación lipídica. La susceptibilidad de los PUFA a la oxidación aumenta cuando lo hace el grado de insaturación, de tal manera que la susceptibilidad a la oxidación de C18:3 n-3 es superior a la de C18:2 n-6 (Raes et al., 2004).

Para limitar los efectos adversos que la oxidación de los lípidos tiene sobre la carne y así aumentar su valor comercial, está ampliamente extendido el uso de antioxidantes. Los antioxidantes pueden ser inyectados directamente en el músculo (Salvatori et al., 2004; Maiorano et al., 2007) o bien incluidos en la dieta de los animales (Demirel et al., 2004; Gobert et al., 2010), siendo esta última una de las maneras más efectivas para inhibir la oxidación de los lípidos de la carne (Wulf et al., 1995). Entre los antioxidantes utilizados se encuentran sustancias naturales, como el α -tocoferol, el ácido ascórbico los polifenoles o los carotenos, y artificiales como el butilhidroxianisol, el EDTA o el butilhidroxitolueno. En los últimos años, los antioxidantes de origen natural son los más aceptados por parte del consumidor, debido a su preocupación por la seguridad y la toxicidad de los productos de origen sintético.

La vitamina E, normalmente all-rac- α -tocopherol, es el antioxidante más ampliamente estudiado y analizado desde un punto de vista productivo, ya que su presencia condiciona claramente la calidad de la carne (Salvatori et al., 2004; Lauzurica et al., 2005; Ripoll et al., 2011; Ponnampalam et al., 2012). La vitamina E juega un papel importante en la prevención de los efectos negativos que los radicales libres

causan en los tejidos, particularmente en la oxidación de los lípidos de las membranas de las células, en la reducción de las pérdidas por goteo y en la estabilización del color de la carne (Lopez-Bote et al., 2001; Deaville et al., 2004).

Además de actuar como antioxidante, la vitamina E juega un papel importante en muchas funciones biológicas. Es capaz de prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades degenerativas e inflamatorias (Vagni et al., 2011), mejorar la función inmunitaria (Hatfield et al., 2002) y ha sido asociada con una posible prevención o retraso de enfermedades cardiovasculares y cáncer (D'Alessandro et al., 2012). En relación a su función antioxidante, la vitamina E es extremadamente importante en los recién nacidos, que muestran una mayor sensibilidad a los daños oxidativos que los adultos (Debier et al., 2005).

La vitamina E es un antioxidante liposoluble, hidrolizado a tocoferol libre en el lumen intestinal, absorbido en forma de micelas a través de la mucosa intestinal, y transportado hasta los distintos tejidos por el torrente sanguíneo asociado a lipoproteínas séricas (Debier et al., 2005). Según algunos autores, la vitamina E podría ser degradada en el rumen, ya que se han observado pérdidas entre la cantidad ingerida y la disponible a nivel intestinal (Alderson et al., 1991; Chikunya et al., 2004). Sin embargo, estudios *in vitro*, han detectado poca o ninguna degradabilidad ruminal de la vitamina E (Leedle et al., 1993), debido a que los dobles enlaces de los tocoferoles son estables y no son fácilmente hidrogenados o degradados bajo condiciones anaeróbicas. Una vez en los tejidos, la vitamina E se deposita en las membranas de las células musculares y en los depósitos grasos (Liu et al., 1995), rompe la cadena de peroxidación lipídica, previene la formación de hidroperóxidos e inhibe las lipoperoxidasas (Buckley et al., 1995), enzimas responsables de la oxidación de las grasas.

Experimentos realizados en los últimos años, han demostrado que la suplementación de la dieta de los corderos con vitamina E incrementa la concentración de α -tocoferol depositado en el músculo y en los tejidos grasos, disminuyendo significativamente los procesos de oxidación lipídica en la carne (Lauzurica et al., 2005; Ripoll et al., 2013). López-Bote et al. (2001) observaron que el nivel óptimo para retrasar el deterioro de la carne, basándose en el contenido en TBARS de la misma, podría estar en torno a los 5,4 mg α -tocoferol por kg de músculo que correspondería con una concentración en la dieta de 590 mg de α -tocoferol por kg de alimento. La concentración de vitamina E que se

requiere en la ración de los corderos para incrementar su deposición en los tejidos y así evitar la oxidación lipídica es variable y depende de la raza, el peso al sacrificio y el sistema de explotación (Daza et al., 2003). Las dietas de rumiantes ricas en PUFA n-3 y suplementadas con niveles supranutricionales de vitamina E, permiten reducir los niveles característicos de oxidación de la carne con un alto contenido en PUFA n-3 (Juárez et al., 2012). Sin embargo, Kasapidou et al. (2012) observaron que la inclusión de silo de hierba (rico en ALA) en la ración de corderos aumentó de manera importante el contenido en PUFA n-3 de la carne, sin embargo, aunque este cambio no necesitó niveles adicionales de vitamina E en la dieta para mantener la calidad de la carne, si que se observó un ligero descenso en el nivel de TBARS con la suplementación adicional de la dieta con vitamina E.

El incremento del contenido en vitamina E de las membranas celulares estabiliza su integridad e impide el paso del líquido sarcoplásmico, lo que supone una reducción de las pérdidas por goteo de la carne (Maiorano et al., 2007), que se ven incrementadas al oxidarse los lípidos (Ripoll et al., 2011). Maiorano et al. (2007) observaron, al inyectar intramuscularmente en corderos una dosis de 150 IU de vitamina E por semana desde el destete al sacrificio a los 71 días, una reducción del 11% en las pérdidas por goteo de la carne en comparación con los corderos no tratados con vitamina E.

El incremento en el contenido de vitamina E del músculo aumenta la estabilidad del color de la carne (López-Bote et al., 2001). Estos autores observaron que la suplementación de la dieta de corderos ligeros con vitamina E originó un aumento significativo de los valores de la coordenada cromática a* (índice de rojo) de la carne a partir del tercer día de conservación con respecto a los corderos no suplementados, manteniendo el color rojo de la carne durante más tiempo. La actuación de la vitamina E podría residir en la inactivación de los radicales libres que oxidan la mioglobina o en el retraso de la formación de metamioglobina (Lauzurica et al., 2005). La oxidación de la mioglobina produce metamioglobina y como consecuencia, coloraciones pardas características de carnes mal conservadas y con baja aceptabilidad por los consumidores. Así, Guidera et al. (1997) observaron una mejora en la estabilidad del color de la carne de corderos suplementados con 1000 mg de α -tocoferol por kg de alimento cuando se comparó con carne de corderos no suplementados. Ripoll et al. (2011) al suplementar raciones de corderos con vitamina E observaron valores significativamente inferiores de la coordenada cromática L* (luminosidad) y por tanto,

mayor estabilidad del color de la carne, asociados a aumentos en el contenido en α -tocoferol del músculo. La vitamina E podría modificar la luminosidad de la carne como consecuencia de las variaciones que se producen en la capacidad de retención de agua. Así, la vitamina E evita la oxidación de la carne, reduce las pérdidas de agua de la carne, la humedad superficial y a corto plazo la luminosidad de la carne (Elisabeth and Steven, 2005).

La vitamina E ha sido asociada a cambios en los procesos de biohidrogenación de los ácidos grasos a nivel ruminal. Así, varios experimentos en vacas de leche han sugerido posibles efectos sobre las rutas alternativas de biohidrogenación de los ácidos grasos que se producen con raciones con aceites vegetales altamente insaturados. De acuerdo con Pottier et al. (2006), 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 (MFD) en la leche (ver apartado 2.3.2.). Bell et al. (2006) observaron que la suplementación de la dieta de vacas lecheras con vitamina E (150 IU/kg de MS) podría mitigar el efecto que la inclusión de un 6% de aceite de cártamo en la ración tiene sobre el contenido de grasa de la leche, aumentando tanto el porcentaje como la producción de grasa de la leche, sin que el perfil de ácidos grasos de la leche característico de MFD se vea modificado, es decir, con aumentos en el contenido en *trans-10* C18:1 y *trans-10, cis-12* C18:2 de la grasa de la leche al incluir grasas altamente insaturadas. Sin embargo, Capper et al. (2007) en ovejas al inicio de la lactación y O'Donnell-Megaró et al. (2012) en vacas lecheras observaron que la suplementación de la ración con vitamina E (500 mg/kg y 400 IU/kg de MS respectivamente) no afectó significativamente ni a la producción ni a la composición de la leche.

El término vitamina E incluye 8 moléculas de origen vegetal, cuatro tocoferoles (α , β , γ , δ) y cuatro tocotrienoles (α , β , γ , δ), siendo el α -tocoferol el que presenta mayor actividad biológica (Dersjant-Li and Peisker, 2010) y al que se le conoce comúnmente como vitamina E. El α -tocoferol es la forma más abundante en los tejidos animales y está disponible comercialmente para alimentación animal al haber sido sintetizada químicamente. Este isómero presenta en su cadena saturada de 16 carbonos tres centros quirales en las posiciones 2', 4' y 8'. En cada centro quiral puede haber dos posibles configuraciones dependiendo de la orientación R o S del grupo metilo, existiendo un total de 8 estereoisómeros. La vitamina E derivada de una fuente natural contiene un solo estereoisómero, con la configuración R en las posiciones 2', 4' y 8' (RRR- α -

tocoferol), mientras que la vitamina E de síntesis (all-rac- α -tocoferol) es la mezcla de los 8 estereoisómeros existentes (RRR, RSS, RSR, RSS, SRR, SRS, SSR y SSS), derivados de precursores petroquímicos.

La biodisponibilidad de los distintos estereoisómeros no es la misma y estudios en ratas y humanos han sugerido que estas diferencias podrían ser debidas a la captación selectiva de las formas con configuración R en la posición 2 y no a diferencias en la actividad antioxidante (Ingold et al., 1987; Scherf et al., 1996). Se define como unidad internacional (UI) 1 mg de all-rac- α -tocoferol acetato, expresándose el resto de los estereoisómeros en UI con respecto a all-rac- α -tocoferol acetato. La vitamina E natural muestra una actividad biológica (1,36 IU/mg) superior a la de la sintética (1 IU/mg). Este valor de 1.36, comúnmente aceptado, fue determinado para ratas gestantes (Harris y Ludwig, 1949) y su uso se ha extendido a otras fases productivas y especies animales. Estudios recientes en vacas lecheras y en cerdos, han observado que la biodisponibilidad relativa de la vitamina E natural es superior a 1.36 veces la de la vitamina E sintética (Lauridsen et al., 2002; Meglia et al., 2006; Weiss et al., 2009; Yang et al., 2009). A pesar de su menor bioactividad, la vitamina E sintética es la más utilizada en alimentación animal, debido a su menor coste (Meglia et al., 2006; Wilburn et al., 2006). Son escasos los trabajos en ganado ovino que evalúen las diferencias entre el empleo de vitamina E sintética y natural.

Como se ha mencionado en apartados anteriores, el cordero lechal se alimenta exclusivamente de leche materna hasta su sacrificio, por lo que para aumentar el contenido en vitamina E de su carne y así mejorar su calidad, es necesario incrementar el contenido en vitamina E de la leche, teniendo en cuenta el índice de transferencia de la vitamina E de la leche al cordero. Además, puesto que el cordero nace con una baja concentración en vitamina E en el plasma, comparada con la concentración en la madre (Malone, 1975), y dada la importancia de esta vitamina en las primeras fases del cordero, es importante que las necesidades de esta vitamina sean cubiertas mediante el consumo de calostro y de leche materna.

Hasta el momento, son pocos los trabajos realizados en ganado ovino que evalúen la transferencia del α -tocoferol de la leche de oveja, cuya dieta ha sido suplementada con vitamina E, al cordero lechal (Capper et al., 2005), siendo más numerosos los trabajos realizados en ganado vacuno (Dersjant-Li and Peisker, 2010; Horn et al., 2010).

La transferencia de la vitamina E de la oveja gestante al plasma del cordero neonato es baja e ineficiente, lo que puede ser debido al gran tamaño de la molécula de vitamina E o a la baja transferencia de los lípidos a los que esta asociada la vitamina E (Njeru et al., 1994). Sin embargo, Capper et al. (2005) observaron un aumento significativo en la concentración de vitamina E en el cerebro y el músculo *Semimembranosus* de los corderos neonatos cuyas madres fueron suplementadas diariamente con 500 mg de vitamina E por kg de ración durante las últimas 6 semanas de gestación, sin que esta concentración alcanzase el nivel suficiente para cubrir las altas necesidades existentes en esta fase del cordero.

Aunque la transferencia de la vitamina E del alimento a la leche es baja (McDowell et al., 1996), la suplementación de la ración con vitamina E consigue aumentar su contenido en vitamina E en la leche (Capper et al., 2005). La transferencia de la vitamina E del alimento a la leche depende del tipo de vitamina E suplementada. Meglia et al. (2006) y Weiss et al. (2009) observaron en vacas lecheras concentraciones de vitamina E en la leche 1,24 y 1,43 veces mayores en las vacas suplementadas con vitamina E natural frente a las suplementadas con vitamina E sintética. Independientemente de la fuente de vitamina E, el estereoisómero RRR fue el mayoritario en el plasma y la leche de vaca, indicando que la forma natural (RRR) es la preferentemente transferida al plasma y a la leche (Vagni et al., 2011).

La transferencia de la vitamina E de la glándula mamaria al calostro y a la leche no parece presentar ninguna barrera, por lo que la suplementación de la dieta de la oveja con niveles adicionales de vitamina E produce un aumento de la concentración en vitamina E de la leche y del calostro (Njeru et al., 1994; Capper et al., 2005). El calostro contiene mayor cantidad de vitamina E que la leche debido a la mayor cantidad de grasa que presenta (Horn et al., 2010).

Son escasos los trabajos que estudian los efectos de la vitamina E sobre los rendimientos productivos y la composición de la grasa de la leche de oveja, así como su transferencia y sus efectos sobre los rendimientos productivos y la calidad de la grasa y de la carne de los corderos lechales producidos, por lo que es un aspecto que requiere mayor investigación.

III. Objetivos y planteamiento experimental

La suplementación de la ración de rumiantes con fuentes de grasa altamente insaturadas permiten modificar el perfil lipídico de los productos obtenidos (leche y carne), aumentando el nivel de algunos ácidos grasos poliinsaturados, como el CLA y los PUFA n-3, con efectos beneficiosos para la salud humana.

Para mejorar el perfil nutricional de la grasa de la leche de oveja, se ha realizado un gran número de trabajos que han versado sobre la utilización de grasas de distinto origen, a diferente dosis y forma de incorporación en las raciones de ovejas de aptitud lechera en la fase intermedia de lactación. Sin embargo, la información referente al efecto del uso de grasas altamente insaturadas en la ración de ovejas al inicio de lactación es más limitada y no menos importante en el caso de razas de aptitud mixta, como la raza Churra, por sus efectos sobre la producción y calidad de la grasa de la leche y, por tanto, sobre la calidad de la carne de los corderos lechales producidos y alimentados exclusivamente con leche materna.

Distintos estudios han puesto de manifiesto que el aumento en el grado de insaturación de la grasa puede provocar una mayor susceptibilidad a la oxidación de la carne. Por ello, se ha recomendado suplementar las dietas de los animales con antioxidantes, siendo la vitamina E uno de los más utilizados y asociada a cambios en los procesos de biohidrogenación de los ácidos grasos que tienen lugar a nivel ruminal.

Teniendo en cuenta todo lo anteriormente expuesto, y considerando la importancia económica que la carne de cordero lechal tiene en los países mediterráneos y en especial en Castilla y León, el desarrollo de estrategias nutricionales que mejoren el valor nutricional, funcional y tecnológico de esta carne, podría hacer estos productos más atractivos a los consumidores y contribuir así a mejorar la rentabilidad de las explotaciones de ganado ovino.

El objetivo general de esta tesis doctoral fue desarrollar estrategias de alimentación del ganado ovino de raza Churra durante el inicio de lactación basadas en la utilización de distintas fuentes de grasa disponibles en el mercado orientadas a mejorar los rendimientos productivos, el perfil de ácidos grasos de la leche durante el inicio de lactación y, por lo tanto, de la carne de lechazo.

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

1. Analizar el efecto de la suplementación de la dieta de ovejas de raza Churra en inicio de lactación con grasas protegidas ricas en ácidos grasos asociados a efectos beneficiosos sobre la salud humana (ácido oleico y PUFA n-3) sobre los rendimientos productivos y el perfil de ácidos grasos de la leche y de la carne y grasa subcutánea de los lechazos producidos.

2. Estudiar el efecto de la inclusión de semillas oleaginosas ricas en PUFA n-3 en la dieta de ovejas Churras en inicio de lactación sobre los rendimientos productivos y el perfil de ácidos grasos de la leche y de la carne y grasa subcutánea de los lechazos producidos.

3. Analizar el efecto de la suplementación de la dieta de ovejas en inicio de lactación con un aceite libre altamente insaturado (aceite de linaza) y vitamina E sobre los rendimientos productivos, el perfil de ácidos grasos de la leche y la estabilidad oxidativa y perfil de ácidos grasos de la carne de los lechazos producidos.

Por último se tratará de integrar la información obtenida y elaborar conclusiones que permitan realizar recomendaciones para optimizar los sistemas de alimentación del ganado ovino lechero en Castilla y León durante el inicio de lactación y, así, mejorar la calidad de sus productos desde un punto de vista nutricional y funcional.

Para poder alcanzar los objetivos establecidos se diseñaron tres pruebas experimentales en las que las raciones de ovejas de raza Churra en inicio de lactación fueron suplementadas con distintas fuentes lipídicas.

La prueba 1 se diseñó para estudiar el efecto de la inclusión en la ración de ovejas en inicio de lactación de una fuente de grasa protegida rica en ácidos grasos monoinsaturados (jabón cálcico de aceite de oliva) y otra rica en ácidos grasos poliinsaturados n-3 de cadena larga (jabón cálcico de aceite de pescado), sobre los rendimientos productivos y el perfil de ácidos grasos de la leche de oveja, de la carne y de la grasa subcutánea de los respectivos corderos lechales, así como para determinar la transferencia de determinados ácidos grasos saludables, especialmente PUFA n-3 de cadena larga desde la ración a la leche y por tanto a la carne de cordero lechal.

En la prueba 2 se estudió el efecto de la inclusión en la ración de ovejas al inicio de lactación de una fuente de grasa rica en ácido linolénico, semilla extrusionada de lino,

sobre los rendimientos productivos y sobre el perfil de ácidos grasos de la grasa de la leche de las ovejas, así como de la grasa intramuscular y subcutánea de los corderos lechales.

Por último, en la prueba 3 se evaluó el efecto de la incorporación de aceite de linaza con o sin vitamina E (natural o sintética) en la ración de ovejas al inicio de lactación sobre los rendimientos productivos, el perfil de ácidos grasos de la leche y sobre el perfil de ácidos grasos y la estabilidad oxidativa de la carne de los corderos lechales producidos.

Finalmente, se incluye una discusión general que integra los resultados de las tres pruebas experimentales donde se compara el efecto de las distintas fuentes de grasa conjuntamente.

Aunque ya ha sido señalado en la introducción de esta tesis, es preciso señalar que la tesis se estructura por pruebas experimentales redactadas en inglés y que, conscientes de que en algún caso pueda resultar coincidente, la metodología de cada prueba se incluye en el capítulo correspondiente con el objetivo de facilitar la lectura y su publicación.

IV. Prueba 1

EFFECTS OF THE OLIVE AND FISH OIL CA SOAPS IN EWE DIETS ON MILK FAT AND MUSCLE AND SUBCUTANEOUS TISSUE FATTY ACID PROFILES OF SUCKLING LAMBS.

Efecto de la suplementación con jabón cálcico de aceite de oliva y aceite de pescado sobre el perfil de ácidos grasos de la grasa de la leche y de la grasa intramuscular y subcutánea de los corderos lechales

1. Resumen

Aumentar el contenido en ácidos grasos (FA) saludables en la grasa de la leche de las ovejas y en los tejidos de los corderos lechales es un importante objetivo para mejorar el valor nutricional de estos alimentos para el consumidor. El presente estudio evalúa el efecto de la alimentación con fuentes de grasa protegidas ricas en FA insaturados sobre la composición lipídica de la grasa de la leche de las ovejas y en consecuencia sobre la grasa intramuscular y la subcutánea de los corderos que se alimentan de esa leche. Treinta y seis ovejas Churras en gestación y sus respectivos corderos recién nacidos fueron asignados a una de las tres dietas experimentales (con una relación forraje/concentrado 50:50) suplementadas con un 3% de jabón cálcico de FA de aceite de palma (Control), oliva (OLI) y pescado (FO). Los corderos se alimentaron exclusivamente de leche materna durante todo el período experimental. Cuando alcanzaron los 11 kg de peso vivo fueron sacrificados y se tomaron muestras del músculo *Longissimus dorsi* y de la grasa subcutánea. Aunque la producción de leche no fue afectada por el tipo de suplemento lipídico, la dieta FO disminuyó el contenido de grasa de la leche ($P < 0,001$). El perfil de FA de la leche del tratamiento OLI fue similar al del tratamiento Control. En contraste, la dieta FO disminuyó drásticamente el contenido de los ácidos esteárico y oleico ($P < 0,001$) y aumentó el de todos los ácidos grasos saturados de cadena par desde el C16:0 al C14:0 ($P < 0,05$). El tratamiento FO registró también los mayores niveles de *cis-9, trans-11* C18:2 (2.21%) y de FA n-3, EPA (0,58%), DPA (0,48%) y DHA (0,40%). Los altos niveles de *trans-11* C18:1 (7,10%) conseguido con la dieta FO podría sugerir que los jabones cálcicos solo confieren una protección parcial a la grasa en el rumen. Por otro lado, la ausencia de

diferencias en el nivel de *trans-10* C18:1 ($P < 0,05$) y de otros ácidos grasos *trans* entre los tratamientos Control y FO, podría ser una evidencia de que el tratamiento FO no altera, en las condiciones ensayadas, las rutas de biohidrogenación en el rumen. Cambios en el perfil de FA de la leche de las madres dieron lugar a diferencias en el perfil de FA de la carne y de los depósitos grasos de los respectivos corderos lechales sin afectar a los rendimientos productivos. En conjunto, los corderos lechales incorporan preferentemente FA poliinsaturados en el músculo antes que depositarlos en el tejido adiposo. En los corderos del tratamiento FO, todos los FA n-3 alcanzaron las mayores concentraciones: 0,97 (α -linolénico), 2,72 (EPA), 2,21 (DPA) y 1,53% (DHA). Además, la grasa intramuscular de los corderos del tratamiento FO, presentó el mayor contenido en *cis-9, trans-11* C18:2 (1,66%), *trans-11* C18:1 (3,75%) y la menor relación n-6/n-3 (1,80%) y no afectó al contenido de ácidos grasos saturados, por lo que mostró el mejor perfil de FA desde un punto de vista nutricional.

Palabras claves: cordero lechal, ácido graso, leche, intramuscular, jabón cálcico

2. Abstract

Enhancing healthy fatty acids (FA) in ewe milk fat and suckling lamb tissues is an important objective in terms of improving the nutritional value of these foods for the consumer. The present study examined the effects of feeding protected lipid supplements rich in unsaturated FA on the lipid composition of ewe milk, and subsequently in muscle and subcutaneous adipose tissues of lambs suckling such milk. Thirty-six pregnant Churra ewes with their new-born lambs were assigned to one of three experimental diets (forage/concentrate ratio 50:50) each supplemented with either 3% Ca soap FA of palm (Control), olive (OLI) or fish (FO) oil. The lambs were nourished exclusively by suckling for the whole experimental period. When the lambs reached 11 kg BW they were slaughtered and samples were taken from *Longissimus dorsi* and subcutaneous fat depots. Although milk production was not affected by lipid supplementation, the FO diet decreased fat content ($P < 0.001$), whereas the OLI milk FA profile resembled that of the Control diet. In contrast, although FO drastically diminished the contents of stearic and oleic acids ($P < 0.001$), all the even saturated FAs from C6:0 to C14:0 increased ($P < 0.05$). FO also produced the highest levels of *cis-9, trans-11* C18:2 (2.21%) and n-3 FA, EPA (0.58%), DPA (0.48%) and DHA (0.40%).

The high levels of *trans-11* C18:1 (7.10%) obtained with the FO diet would suggest that Ca soaps only confer partial protection in the rumen. On the other hand, the lack of difference in *trans-10* C18:1 levels ($P > 0.05$) and other *trans* FA between Control and FO treatments would indicate that FO treatment does not alter rumen biohydrogenation pathways under the assayed conditions. Changes in dam milk FA composition induced differences in the FA profiles of meat and fat depots of their suckling lambs without affecting lamb performance. Overall, suckling lambs preferentially incorporated polyunsaturated FA into muscle rather than storing them in adipose tissue. In the intramuscular fat of the FO treatment, all the n-3 FA reached their highest concentrations: 0.97 (α -linolenic acid), 2.72 (EPA), 2.21 (DPA) and 1.53% (DHA). Additionally, not only did FO intramuscular fat had the most *cis-9, trans-11* C18:2 (1.66%) and *trans-11* C18:1 (3.75%), but it also the lowest n-6/n-3 ratio (1.80) and saturated FA content was not affected. FO therefore exhibited the best FA profile from a nutritional point of view.

Keywords: suckling lamb, fatty acid, milk, intramuscular, Ca soap .

3. Introduction

In many Mediterranean areas dairy sheep produce suckling lambs which are raised exclusively on maternal milk and slaughtered when they are between 30 and 45 days of age. This suckling lamb meat is popular and considered a high quality food, even though its fatty acid (FA) profile does not adequately meet nutritional recommendations because of its high content of some saturated fatty acids (SFA) and their potential hypercholesterolemic effects (Micha and Mozaffarian, 2010). Therefore, there is currently much interest in adding value to sucking lamb meat by reducing the SFA content and increasing the levels of some specific FA, which are thought to be beneficial for human health, such as oleic acid, CLA and n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA). Moreover, the proportion of some *trans* FA which results from an incomplete biohydrogenation (BH) of PUFA in the rumen, should be limited due to their detrimental effects on human health (Shingfield et al., 2013).

As the FA profile of suckling lamb meat tends to reflect the FA profile of their mother's milk, changing the FA composition of the dam's milk by dietary means could also change the FA profile of the suckling lamb's meat, as previously reported (Osorio

et al., 2007; Joy et al., 2012). Several nutritional strategies have been studied to improve the FA profile of milk and suckling lamb meat, mostly by including in the ewe diet unsaturated fats (plant oils, oilseeds and marine and fish oils) (Capper et al., 2007; Osorio et al., 2007; Manso et al., 2011).

Oleic acid is the major monounsaturated fatty acid (MUFA) in ruminant feeds, and some studies have reported increases in this FA in milk and lamb meat when olive oil is added to the diet (Pérez Alba et al., 1996; Arana et al., 2006; Manso et al., 2011). Adding marine oils to dairy ewe diets has also proven to be an effective nutritional strategy for enhancing the milk content of some bioactive FA, such as *cis-9, trans-11* C18:2 (Rumenic Acid, RA), its precursor *trans-11* C18:1 (vaccenic acid, VA) and, to a lesser extent, n-3 FA (Toral et al., 2010a and 2010b). Although the transfer efficiency of EPA and DHA to milk fat is low due to a highly incomplete BH by the ruminal bacteria, some studies have shown that this transfer efficiency to milk fat is greater when oils are fed in a rumen-protected form (Kitessa et al., 2003). Conversely, fish oils generally cause a shift in the rumen BH pathways with increases in ruminal outflow of specific *trans* FA (e.g. *trans-10* C18:1), which leads to a reduction in milk fat synthesis in the mammary gland (Shingfield, et al., 2006), and to milk production with a low fat content, which could potentially reduce suckling lamb growth rates.

Feeding animals with FA in the form of Ca soaps from different oils could prevent, even if only partially, BH of PUFA in the rumen and reduce the proportion of SFAs and *trans* FAs in the milk and meat. In this way the adverse effects on cell wall digestion and organic matter fermentation in the rumen, resulting from the inclusion of PUFA free lipids, could be avoided (Doreau et al., 2012). The aim of the present study was to evaluate the effects of different Ca soaps of FA (CSFA) of olive oil and fish oil in the diet of Churra ewes on their milk FA profiles and performance and on the intramuscular and subcutaneous FA composition of their suckling lambs. Because specific studies on the subsequent transfer of FA from milk to lamb meat are limited, this study has also focused on the transfer efficiency of healthy FA such as oleic acid, and n-3 PUFA.

4. Material and methods

4.1. Animal and experimental diets

Thirty-six pregnant Churra ewes (mean BW 60.88 ± 1.366 kg) were selected before lambing and fed on the same diet that they would receive during the experimental period but with no fat added (forage/concentrate ratio was 50:50). The ewes were from 3 to 5 years old, their parity ranged from 4 to 6, and they had been artificially inseminated. Two days after lambing, each ewe was assigned to one of three experimental diets (12 ewes per treatment) based on their milk production, age, initial BW, and parity randomization. The thirty-six newborn lambs (eighteen males and eighteen females), covered by the protected geographical indication 'Lechazo de Castilla y León', were housed with their respective mothers all day long and nourished exclusively by suckling for the whole experimental period (from birth until they reached 11 kg BW approximately).

All animal handling practices followed the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council on the Protection of Animals used for experimental and other scientific purposes. The three experimental diets which consisted of a total mixed ration (TMR), were iso-energetic and iso-nitrogenous but varied according to the type of supplemented CSFA (Table 1): Control, with 3% of Ca soap of palm oil (Magnapac®, Norel Animal Nutrition, Madrid, Spain), OLI, with 3% of Ca soap of olive oil (Olifat®, Anupal S.L., Zaragoza, Spain) and FO, with 3% of Ca soap of fish oil (Strata-g Lactation®, Virtus Nutrition LLC., Corcoran, USA). The FA profiles of fat supplements are supplied in Table 1. The CSFA of palm oil was used as a control, because it is commonly used in sheep feeding.

Each ewe was individually fed and received a total of 34.1 g of TMR per kg BW (on average 2.1 kg DM per head per day) of the corresponding experimental diet, plus 210 g of barley straw per head per day and fresh water *ad libitum*. Samples of diets were taken once a week during the whole experimental period and their chemical composition was determined using the procedures described by the AOAC (2003). There were no statistical differences in chemical composition between experimental diets.

Table 1. Ingredients and chemical composition of the ewe experimental diets.

	Control	OLI	FO
Ingredients, (%) as fed			
Dehydrated alfalfa	39.38	39.38	39.38
Soybean meal	13.77	13.77	13.77
Corn grain	11.83	11.83	11.83
Oat grain	10.38	10.38	10.38
Barley grain	7.86	7.86	7.86
Beet pulp	7.86	7.86	7.86
Molasses	4.95	4.95	4.95
Magnapac ¹	3	0	0
Olifat ²	0	3	0
Strata-g ³	0	0	3
Vitamin-mineral premix	1.00	1.00	1.00
Chemical composition (% DM)			
DM, %	88.87	88.65	88.77
Ash	9.07	9.35	9.56
NDF	28.34	28.34	28.34
ADF	17.56	17.56	17.56
Crude Protein	16.86	16.86	16.86
Ether extract	5.30	5.30	5.32

¹ Magnapac = Calcium soap of palm oil (Magnapac[®], Norel Animal Nutrition, Madrid, Spain), fatty acid composition (%): C14:0, 1.20; C16:0, 46.9, C18:0, 40.7; C18:1, 9.70; C18:2, <0.1; C18:3, <0.1; C20:5, <0.1; C22:6, <0.1; ² Olifat = Calcium soap of olive oil (Olifat[®], ANUPAL S.L., Puebla de Alfinden, Zaragoza, Spain), fatty acid composition (%): C14:0, 1.40; C16:0, 8.2, C18:0, 2.90; C18:1, 53.7; C18:2, 15.6; C18:3, 3.10; C20:5, 0.2; C22:6, <0.1; ³Strata-g = calcium soap of fish oil (Strata-g Lactaction[®], Virtus Nutrition LLC., Corcoran, CA, USA), fatty acid composition (%): C14:0, 2.2; C16:0, 8.1, C18:1, 17.2; C18:2, 4.5; C18:3, 1.5; C20:5, 19.6; C22:6, 9.7.

4.2. Milk sampling and composition

During the suckling period, the ewes were machine milked once a day in a 2 x 24 low-line Casse system milking parlour with twelve milking units and two milkers. The milking machine (Alfa-Laval Iberia, S.A., Madrid, Spain) was set to provide 180 pulsations per minute in a 50:50 ratio at a vacuum level of 36 kPa. Once a week, individual ewe milk production was recorded and milk samples were taken in milk collection jars. One sub-sample of milk was kept at 4°C until analysed for fat, protein and total solids content according to International Dairy Federation (IDF, 2000) standards, using a MilkoScan-400 analyser (Foss Electric, Hillerød, Denmark). Aliquots from weeks 2 and 4 of the experimental period were stored at -80°C for FA analysis.

4.3. Slaughter procedure and carcass sampling

Lambs were weighed twice a week until they reached the intended BW (approximately 11 kg). At the conclusion of the trial, 2 or 3 suckling lambs from each group were transported to a commercial EU-licensed abattoir on 4 different days and slaughtered at 28 ± 0.9 days of age. The lambs were stunned and slaughtered by section of the jugular vein in the neck. After slaughter, the skins and all internal organs were removed and carcasses were immediately weighed (hot carcass weight, HCW) and transferred to a cooler at 4°C. After 24 hours, carcasses were weighed again (cold carcass weight, CCW) and the dressing percentage was calculated as the ratio of CCW to slaughter live weight. Fat samples of the muscle *Longissimus dorsi* (dissected between the 6th and the 13th rib) and subcutaneous dorsal fat (dissected from the rump) were taken and frozen at -80°C until FA composition determination.

4.4. Fatty acid analysis

Milk FA composition was determined in individual samples from weeks 2 and 4, and milk fat was extracted according to the procedure described by Luna et al. (2008). Intramuscular fat extraction was performed using the Bligh and Dyer (1959) method and subcutaneous fat was extracted by fusion of individual samples. Milk FA composition and fat depots were determined by gas-liquid chromatography. Fatty acid methyl esters (FAME) were prepared according to ISO-IDF (2002) standards. Analysis of FAME was carried out on a gas-liquid chromatograph (Agilent 6890 N Network System) onto a CP-Sil 88 fused silica capillary column (100 m X 0.25 mm, i.d., 0.20 μm film thickness, Varian, Middelburg, The Netherlands) under similar conditions to those reported by Luna et al. (2008). Individual FAME quantification was performed using a milk fat with a known FA composition (CRM 164; European Community Bureau of Reference, Brussels, Belgium) and FA were identified by comparison with standards distributed by Nu-Chek (Elysian, MN, USA).

4.5. Statistical analysis

Average daily weight gain was estimated as the regression coefficient (slope) of live weight against time using the REG procedure of SAS. Data of milk yield and composition (FA included) were analysed by repeated measurement analyses using the MIXED procedure which included the fixed effects of the diet (D), time on diet (T) and

their interactions (D × T). The rest of the parameters were statistically analysed by one-way analysis of variance using the general linear model (PROC GLM). All the procedures were from the SAS 9.2. package (SAS Inst. Inc., Cary, NC).

5. Results and discussion

5.1. Milk yield and composition

The average daily milk yield and composition are recorded in Table 2. Neither milk yield nor protein yield and content were significantly modified by the dietary treatments ($P > 0.10$). However, milk fat content and total solids were significantly affected by the type of CSFA included in the diet. OLI and FO supplements significantly decreased ($P < 0.001$) milk fat content, reaching reductions of 17% and 35%, respectively, compared with Control milk. Changes in total solids content varied in accordance with the decreases reported for milk fat. FO Ca soaps reduced the percentage of milk solids ($P < 0.01$).

Table 2. Average daily milk yield and composition of ewes fed diets supplemented with calcium soap of fatty acids of palm (Control), olive (OLI) and fish (FO) oil.

	Experimental diets			SED	P value ¹		
	Control	OLI	FO		D	T	D x T
Yield, g/day							
Milk	1,686	1,908	1,597	323.8	ns	ns	ns
Fat	89.2 ^a	85.6 ^a	56.8 ^b	12.61	*	ns	ns
Protein	73.6	87.2	74.3	10.72	ns	ns	ns
Total solids	274.6	280.5	232.6	25.67	ns	ns	ns
Composition, %							
Fat	5.42 ^a	4.48 ^b	3.53 ^c	0.649	***	ns	ns
Protein	4.42	4.56	4.64	0.185	ns	ns	ns
Total solids	15.30 ^a	14.86 ^a	14.11 ^b	0.322	**	ns	ns

¹ Probability of significant effects due to experimental diets (D), time on diet (T), and their interaction (D x T).

† $P < 0.10$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

SED = standard error of the difference

^{a-c} Means within a row with different superscripts differ significantly

Previous studies have shown increases in milk yield and reductions in milk protein when sheep diets are supplemented with fat or oil (Pulina et al., 2006). These changes can probably be explained by the greater energy content of the lipid-supplemented diets compared with the non-supplemented ones, and the reduced amino acid availability in the mammary gland. Because the amount of feed offered to the animals was the same and the diets assayed in the present experiment were iso-energetic, iso-nitrogenous and supplemented with some type of CSFA, no changes in milk yield or in protein content were expected. Similar results were previously reported by Manso et al. (2011) when supplementation with different oils was compared using iso-energetic experimental rations. Concerning the decrease of milk fat yield and content observed in the FO treatment, the dietary FA profile as well as the rumen and mammary metabolism of these compounds would play a dominant role, as is more extensively discussed below.

5.2. Milk fatty acid composition

Table 3 shows the FA profile of milk fat from ewes fed with the different experimental diets. There were no differences ($P > 0.10$) in the percentages of total SFA between treatments, whereas the lowest concentration of MUFA ($P < 0.01$) and the highest concentration of PUFA ($P < 0.001$) were observed in FO milk. Although CSFA of olive oil supplementation did not change ($P > 0.10$) the average percentage of some SFA, such as C12:0, C14:0 and C18:0, it did decrease ($P < 0.001$) the C16:0 content compared with Control treatment. Milk from ewes supplemented with FO displayed the highest concentrations of even SFA from C6:0 to C14:0 and the lowest percentages for C16:0 and C18:0 ($P < 0.001$).

The differences in MUFA concentrations were mainly due to changes in the *cis*-9 C18:1 level, which was significantly lower in FO milk than in Control and OLI milks ($P < 0.001$). Supplementation with CSFA of olive oil led to a remarkable increase in a variety of *trans* C18:1 isomers ($P < 0.001$) in milk. FO ewes produced the milk with the highest concentration of VA while Control ewes showed the lowest values ($P < 0.001$). On the other hand, milk from ewes supplemented with OLI and FO displayed the lowest concentrations of C18:2 n-6 ($P < 0.001$). The RA content in milk from ewes in the OLI group was significantly higher than Control but lower than FO ($P < 0.001$). In addition, FO milk presented the greatest concentration of α -linolenic acid as well as other n-3 PUFA such as EPA, DPA and DHA ($P < 0.001$).

The highest content of C16:0 in Control milk fat can be attributed to the considerable amount of this FA in palm oil, the major FA (Table 1), and to the fact that C16:0 would not suffer changes in the digestive tract. Although OLIFAT had the highest level of *cis-9* C18:1 in its CSFA, the content of this FA in OLI milk fat did not differ from that of Control milk fat. These results could be explained primarily by the abundance of C18:0 in the Control supplement (Table 1) since this FA is partly converted into *cis-9* C18:1 in the mammary gland via Δ^9 -desaturase (Bichi et al., 2012). In contrast, *cis-9* C18:1 from OLIFAT would be susceptible to isomerization in rumen and involve the formation of several isomer *trans*-monoenes (Mosley et al., 2002; Gómez-Cortés et al., 2008). This fact would account for the significant increases in these isomers, mainly *trans-10* C18:1 and VA, in OLI milk fat (Table 3). Part of the VA in OLI milk fat could also be derived from the partial BH of linoleic and α -linolenic acids present in high percentages in OLIFAT but lacking in the fat supplement of the Control diet (Table 1).

The high content of VA in FO milk (7.1%) confirms that calcium soap protection of fats is incomplete (Jenkins and Bridges, 2007; Shingfield et al., 2013). VA accumulation in milk fat reflects the inhibitory action of n-3 PUFA present in marine oil, mainly DHA, on the final BH step of 18 carbon unsaturated FA (Abu-Ghazaleh and Jenkins, 2004). The strong correlations determined between VA and EPA ($r = 0.85$, $P < 0.001$), DPA ($r = 0.90$, $P < 0.001$) DHA ($r = 0.88$, $P < 0.001$) as well as total PUFA n-3 ($r = 0.88$, $P < 0.001$) would support this statement. Moreover, VA accumulation in FO milk could help to explain the drastic reduction of C18:0 in this treatment (3.74 vs.11.09 vs.11.57 for FO, Control and OLI, respectively). Furthermore, this mechanism could also be indirectly responsible for the low percentage of *cis-9* C18:1 observed in FO milk. The reduction of C18:0 in ruminal out-flow would therefore result in a lower contribution of C18:0 to the mammary gland in FO ewes, which in turn would limit the endogenous synthesis of *cis-9* C18:1 via Δ^9 -desaturase, despite the increase of enzymatic activity in FO ewes (Table 3).

Table 3. Ewe milk fatty acid profile (% of total fatty acid methyl esters) fed diets supplemented with Ca soap of fatty acids of palm (control) olive (OLI) and fish (FO) oil.

	Experimental diets			SED	P value ¹		
	Control	OLI	FO		D	T	D x T
Saturated (SFA)							
C4:0	4.54 ^a	4.42 ^a	3.72 ^b	0.212	***	ns	ns
C6:0	2.87 ^b	3.20 ^{ab}	3.43 ^a	0.266	*	†	ns
C8:0	2.36 ^c	2.79 ^b	3.43 ^a	0.324	***	*	ns
C10:0	6.03 ^c	7.24 ^b	9.34 ^a	1.001	***	*	ns
C12:0	3.18 ^b	3.77 ^b	5.02 ^a	0.542	***	*	ns
C13:0 <i>iso</i>	0.02 ^a	0.02 ^a	0.02 ^b	0.002	***	ns	ns
C13:0 <i>anteiso</i>	0.02 ^b	0.03 ^b	0.03 ^a	0.004	***	**	ns
C13:0	0.09 ^b	0.10 ^b	0.16 ^a	0.021	***	*	ns
C14:0 <i>iso</i>	0.07	0.08	0.07	0.007	ns	ns	ns
C14:0	7.47 ^b	8.37 ^b	10.03 ^a	0.669	***	**	ns
C15:0 <i>iso</i>	0.17 ^b	0.18 ^b	0.23 ^a	0.013	***	ns	ns
C15:0 <i>anteiso</i>	0.26 ^b	0.29 ^b	0.33 ^a	0.025	**	ns	ns
C15:0	0.63 ^b	0.69 ^b	0.87 ^a	0.052	***	ns	ns
C16:0 <i>iso</i>	0.19	0.19	0.20	0.015	ns	ns	†
C16:0	27.10 ^a	21.54 ^c	24.75 ^b	1.021	***	*	ns
C17:0	0.61	0.58	0.66	0.085	ns	**	ns
C18:0 <i>iso</i>	0.08 ^a	0.06 ^b	0.07 ^b	0.011	†	**	ns
C18:0	11.09 ^a	11.57 ^a	3.74 ^b	1.145	***	**	ns
C20:0	0.18 ^b	0.22 ^a	0.13 ^c	0.015	***	ns	ns
C21:0	0.04 ^c	0.05 ^b	0.06 ^a	0.004	***	ns	*
C22:0	0.06 ^c	0.10 ^a	0.07 ^b	0.006	***	ns	ns
C23:0	0.03 ^b	0.05 ^a	0.05 ^a	0.006	**	ns	ns
C24:0	0.03 ^c	0.05 ^a	0.04 ^b	0.003	***	*	**
Monounsaturated (MUFA)							
<i>cis</i> -9 C10:1	0.19 ^b	0.23 ^b	0.31 ^a	0.040	***	**	ns
<i>cis</i> -9 C14:1	0.09	0.09	0.10	0.013	ns	**	ns
<i>cis</i> -9 C15:1	0.06 ^b	0.07 ^b	0.11 ^a	0.007	***	†	ns
<i>trans</i> -9 C16:1 + C17:0 <i>iso</i>	0.32 ^b	0.35 ^b	0.75 ^a	0.033	***	†	ns
<i>cis</i> -7 C16:1	0.27 ^b	0.26 ^b	0.44 ^a	0.025	***	ns	ns
<i>cis</i> -9 C16:1 + C17:0 <i>anteiso</i>	0.99 ^b	0.91 ^b	1.77 ^a	0.092	***	ns	ns
<i>cis</i> -13 C16:1	0.04 ^b	0.05 ^b	0.06 ^a	0.012	**	*	ns
<i>cis</i> -9 C17:1	0.22	0.20	0.18	0.043	ns	*	ns
<i>trans</i> -4 C18:1	0.03 ^b	0.06 ^a	0.02 ^b	0.007	***	ns	ns
<i>trans</i> -5 C18:1	0.03 ^b	0.06 ^a	0.03 ^b	0.006	***	ns	ns
<i>trans</i> -6-7-8 C18:1	0.32 ^b	0.70 ^a	0.23 ^c	0.063	***	ns	ns
<i>trans</i> -9 C18:1	0.26 ^c	0.53 ^a	0.36 ^b	0.048	***	ns	ns
<i>trans</i> -10 C18:1	0.39 ^b	1.21 ^a	0.78 ^{ab}	0.410	*	ns	ns
<i>trans</i> -11 C18:1	0.85 ^c	1.77 ^b	7.10 ^a	0.449	***	ns	ns
<i>trans</i> -12 C18:1	0.32 ^b	0.56 ^a	0.49 ^a	0.066	***	ns	ns
<i>cis</i> -9 C18:1	23.28 ^a	21.74 ^a	11.39 ^b	2.607	***	*	ns
<i>trans</i> -15+ <i>cis</i> -11 C18:1	0.50 ^c	0.62 ^b	1.02 ^a	0.054	***	ns	ns
<i>cis</i> -12 C18:1	0.21 ^b	0.25 ^a	0.08 ^c	0.025	***	ns	ns
<i>cis</i> -13 C18:1	0.04 ^b	0.06 ^a	0.05 ^b	0.004	***	*	ns

(continued)

Table 3. (Continued)

	Experimental diets			SED	P value ¹		
	Control	OLI	FO		D	T	D x T
<i>trans-16 + cis-14</i> C18:1	0.30 ^b	0.37 ^a	0.09 ^c	0.033	***	ns	ns
<i>cis-15</i> C18:1	0.05 ^b	0.08 ^a	0.08 ^a	0.006	***	ns	ns
<i>cis-16</i> C18:1	0.06	0.07	0.07	0.008	ns	*	ns
<i>cis-11</i> C20:1	0.05 ^c	0.07 ^b	0.20 ^a	0.014	***	ns	ns
Non conjugated C18:2							
<i>trans-11, trans-15</i> C18:2	0.01 ^b	0.02 ^b	0.07 ^a	0.005	***	ns	ns
<i>trans-11, cis-15</i> C18:2	0.03 ^b	0.09 ^b	0.56 ^a	0.066	***	ns	ns
<i>trans-8, cis-12 + cis-9, trans-13</i> C18:2	0.08 ^b	0.11 ^a	0.05 ^c	0.012	***	ns	ns
C18:2 n-6	2.40 ^a	1.86 ^b	1.83 ^b	0.120	***	ns	ns
Other non conjugated C18:2	0.38 ^b	0.46 ^a	0.29 ^c	0.020	***	†	ns
Conjugated C18:2							
<i>cis-9, trans-11</i> C18:2	0.37 ^c	0.68 ^b	2.21 ^a	0.161	***	*	ns
<i>trans-9, cis-11</i> C18:2	0.01 ^b	0.01 ^a	0.02 ^a	0.004	***	ns	ns
<i>trans-10, cis-12</i> C18:2	0.01	0.01	0.01	0.001	ns	ns	ns
<i>trans-11, cis-13</i> C18:2	0.01 ^b	0.01 ^b	0.02 ^a	0.002	***	ns	ns
<i>trans-12, trans-14</i> C18:2	0.01 ^b	0.01 ^b	0.02 ^a	0.003	***	ns	ns
<i>trans-11, trans-13</i> C18:2	0.01 ^b	0.01 ^b	0.03 ^a	0.003	***	†	†
Other <i>trans-trans</i> conjugated C18:2	0.02 ^b	0.02 ^b	0.04 ^a	0.003	***	ns	ns
Other PUFA							
C18:3 n-6	0.04	0.04	0.03	0.009	ns	†	ns
C18:3 n-3	0.31 ^b	0.29 ^b	0.38 ^a	0.022	***	†	ns
<i>cis-9, trans-11, cis-15</i> C18:3	0.03 ^b	0.04 ^a	0.02 ^c	0.004	***	*	ns
<i>cis-9, trans-11, trans-15</i> C18:3	0.01 ^b	0.01 ^b	0.02 ^a	0.002	***	ns	†
C20:3 n-6	0.02 ^b	0.02 ^b	0.04 ^a	0.004	***	ns	ns
C20:4 n-6	0.12 ^b	0.12 ^b	0.15 ^a	0.016	*	ns	ns
C20:5 n-3	0.03 ^b	0.04 ^b	0.58 ^a	0.073	***	ns	ns
C22:4 n-6	0.02	0.02	0.02	0.005	ns	ns	ns
C22:5 n-3	0.07 ^b	0.08 ^b	0.48 ^a	0.040	***	ns	ns
C22:6 n-3	0.03 ^b	0.04 ^b	0.40 ^a	0.042	***	ns	ns
SFA	67.11	65.55	66.45	2.408	ns	*	ns
<i>trans</i> -MUFA	2.19 ^c	4.88 ^b	9.02 ^a				
MUFA	27.33 ^a	28.77 ^a	22.89 ^b	1.664	**	**	ns
PUFA	3.93 ^b	3.89 ^b	7.18 ^a	0.206	***	ns	ns
SCFA	15.99 ^b	17.87 ^b	20.23 ^a	1.105	***	*	ns
MCFA	41.79 ^b	37.75 ^c	45.77 ^a	1.251	***	**	ns
LCFA	42.09 ^a	44.05 ^a	33.34 ^b	2.238	***	**	ns
Ratios²							
14:1 desaturase index ²	0.01 ^a	0.01 ^a	0.01 ^b	0.001	†	*	ns
18:1 desaturase index ²	0.70 ^b	0.71 ^b	0.86 ^a	0.020	***	ns	ns
CLA desaturase index ²	2.03 ^b	1.91 ^b	2.40 ^a	0.248	*	**	ns
n-6/n-3	5.94 ^a	4.65 ^b	1.31 ^c	0.256	***	ns	ns

¹ Probability of significant effects due to experimental diets (D), time on diet (T), and their interaction (D x T); ² 14:1 desaturase index = *cis-9* C14:1/(C14:0 + *cis-9* C14:1); 18:1 desaturase index = *cis-9* C18:1/(C18:0 + *cis-9* C18:1); CLA desaturase index = *cis-9, trans-11* C18:2/(*cis-9, trans-11* C18:2 + *trans-11* C18:1); SED: standard error of the difference; † P < 0.10, * P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001; ^{a-c} Means within a row with different superscripts differ significantly

It is remarkable that, under the experimental conditions assayed, the *trans-10* C18:1 content of milk fat from ewes supplemented with Strata-g did not differ from the other treatments (Table 3). The increase in *trans-10* C18:1 levels in milk fat has frequently been associated with diets supplemented with linoleic-rich fats and marine lipids, where a shift in linoleic acid ruminal BH pathways due to disturbances in the rumen environment can occur (Shingfield et al., 2006; Or-Rashid et al., 2008). Furthermore, the low content of *trans-10* C18:1 in FO milk may be related to the forage/concentrate ratio (50/50) of the basal diet. On low-forage diets or high-concentrate diets containing plant oils or marine lipids, *trans-10* C18:1 often replaces VA as the major *trans* MUFA in milk fat (Shingfield et al., 2013). The degree of protection offered by calcium soaps might help to maintain unaltered the rumen environment and thus prevent changes in ruminal BH pathways.

The increases in RA content achieved with OLI and especially with FO (Table 3) treatment correlated closely with the observed increases in VA milk fat content ($r = 0.97$; $P < 0.001$). As is the case with other ruminants, this was probably due to the fact that the RA content in ewe milk fat originates mainly from endogenous synthesis of the VA produced in the rumen via Δ^9 -desaturase in the mammary gland (Bichi et al., 2012). On the other hand, the very low concentrations of other CLA isomers detected in the current experiment (Table 3) were the result of dietary PUFA conversion in the rumen.

The inclusion of fish oil in the ewe diet produced significant increases ($P < 0.001$) in n-3 PUFA content in milk fat, according to previous research in ovine milk (Kitessa et al. 2003; Toral et al., 2010a). Nevertheless, the apparent transfer of these dietary FA, particularly EPA and DHA, into milk was limited and represented an average transfer efficiency of 4% and 5% respectively. The EPA and DHA levels observed in FO treatment can be attributed to their ruminal BH, despite being supplemented in a protected form. Even in the absence of BH in the rumen, the potential to increase EPA and DHA is usually extremely limited. The lower transfer efficiency from the small intestine into milk for these n-3 FA is thought to arise from the preferential incorporation of absorbed EPA and DHA into plasma phospholipids and cholesterol esters, rather than triacylglycerides of circulating chylomicrons (Kitessa et al., 2001; Shingfield et al., 2013). This fact would favour an uptake of only low proportions of these n-3 FA into the mammary gland.

From a nutritional point of view, the milk FA profile from the OLI treatment was similar to that of milk from the Control treatment. In contrast, supplementation with CSFA of fish oil reduced the oleic acid to approximately half the Control value and increased the C12:0, C14:0 and *trans* MUFA content, which might not seem to be positive from a nutritional perspective. However, most *trans* MUFA increases were linked to increases in VA, the physiological precursor of RA in tissue. Although the transfer of n-3 PUFA from diet into milk fat was limited, the n-6/n-3 ratio (Table 3) decreased 4.5 and 1.2-fold with FO and OLI diets, respectively, compared to the Control diet. The low n-6/n-3 ratio observed in FO milk would be positive from a nutritional point of view due to its potential benefits for human health (Simopoulos, 2008) and its effect on the fat composition of suckling lamb meat, as explained below.

5.3. Milk Fat Depression (MFD)

The fall in milk fat content shown in Table 2 for the FO diet could be attributed to different causes. For instance, it has been proposed that in ewe, *trans-10, cis-12* C18:2 could be a milk fat synthesis inhibitor (Sinclair et al., 2007; Hussein et al., 2013). However, its percentages in the present study were negligible and no significant differences between treatments were detected (Table 3). Other FA such as *trans-10* C18:1 (Shingfield et al., 2009) or *trans-9, cis-11* C18:2 (Perfield et al., 2007) could also be involved in MFD but their amounts in all diets were low (Table 3), so their roles as milk fat synthesis inhibitors could not be justified. Indeed, there was no significant correlation ($P > 0.05$) between changes in these FA with diet and milk fat yield or content, so mechanisms other than direct inhibition had to be involved.

In this regard, it has been argued that the considerable impact of the maintenance of milk fat fluidity on milk fat secretion (Shingfield et al., 2006; Gama et al., 2008; Toral et al., 2010b) related to the incorporation of *cis-9* C18:1 and short chain FA (C4:0 to C10:0) into triacylglycerides is the principal means of assuring milk fat liquidity at body temperature. Marine lipid inhibition of *trans* C18:1 ruminal saturation, thereby reducing the availability of C18:0 for endogenous mammary synthesis of oleic acid, would detrimentally affect milk fat maintenance. Moreover, the greatly increased VA level with a higher melting point than its equivalent *cis*-isomer might also help to reduce milk fat fluidity in FO treatment. The intensified activity of Δ^9 -desaturase in the mammary gland to generate oleic acid, as observed in the FO diet (Table 3), could be thought of as

a synthesis adaptation to try to maintain and regulate milk fat fluidity for efficient secretion. FO treatment increased the milk content of FA with less than 16 carbons (i.e., synthesized *de novo* in the mammary gland), suggesting that there are other mechanisms by which the mammary gland tries to adapt to an altered supply of FA. Thus, when CSFA of fish oil were added to the diet, reduced oleic acid synthesis via Δ^9 -desaturase could be partially alleviated by an increase (Table 3) in the secretion of short and medium chain SFA with low melting points. To this fact would also contribute to the very low presence of *trans* isomers (*trans-10* C18:1, *trans-10*, *cis-12* C18:2 and *trans-9*, *cis-11* C18:2) generally associated with the inhibition of lipogenesis in the mammary gland.

5.4. Lamb performance

The type of CSFA added to ewe diets did not induce significant differences ($P > 0.05$) in growth, weight and dressing percentage values between lambs of the different treatments (Table 4), according to previous research (Casals et al., 2006; Capper et al., 2007; Awawdeh et al. 2009). Milk yield and composition are the principal factors responsible for suckling lamb growth. According to Gargouri et al. (2006) differences in protein intake are decisive in the growth of suckling lambs. Therefore, as the lambs in the current experiment were fed exclusively on maternal milk, there would be no significant differences in milk protein yield and content. Furthermore, the lack of difference in weight and dressing percentages between lambs of the different treatments could be explained by the fact that the milk yield did not limit lamb growth.

Table 4. Animal performance of lambs suckling milk from ewes receiving diets supplemented with Ca soap of fatty acids of palm (Control), olive (OLI) and fish (FO) oils.

	Experimental diets			RSD	P value
	Control	OLI	FO		
Birth body weight (kg)	4.01	4.32	4.59	0.183	ns
Average daily gain (g animal ⁻¹ day ⁻¹)	249	232	225	18.5	ns
Length of suckling period (days)	30.0	27.7	28.3	4.62	ns
Slaughter weight (kg)	10.8	10.3	10.5	0.34	ns
Hot carcass (kg)	5.99	5.52	5.67	0.221	ns
Cold carcass (kg)	5.85	5.39	5.54	0.217	ns
Dressing percentage (%)	54.1	52.2	52.5	0.71	ns
Chilling losses (%)	2.38	2.32	2.33	0.177	ns

† $P < 0.10$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; RSD = residual standard deviation

5.5. Intramuscular and subcutaneous fatty acid composition

Table 5 shows the FA composition of suckling lamb intramuscular and subcutaneous fats. There were no differences between treatment results for total SFA in both fat depots of suckling lambs ($P > 0.10$) and dams milk (Table 3). Following the same trend, intramuscular fat presented the highest MUFA content in Control and OLI treatments and the lowest in FO lambs ($P < 0.01$). FO lambs also had the highest proportion of PUFA ($P < 0.05$) in their intramuscular fat consistent with the higher levels in FO ewe milk. Conversely, no differences between treatments ($P > 0.10$) were found in the MUFA and PUFA content of subcutaneous fat. Regarding individual FA content, in general terms the observed differences reflected those found in the mother's milk, with the exception of the extremely low content of SFA with less than 14 carbon atoms characteristic of body fat. These differences could be attributed to the fact that the suckling lambs were fed exclusively on maternal milk until their slaughter, as well as to their digestive physiology which is similar to monogastrics where the rumen is not functional, and hence no BH of the milk FA takes place (Scerra et al., 2007; Osorio et al., 2007; Manso et al., 2011). Thus OLI treatment resulted in a significant percentage decrease in C16:0 and an increase in most *trans* C18:1 in intramuscular and subcutaneous fats ($P < 0.05$). As in milk fat, the greatest differences in intramuscular fat were observed in the FA profile of FO treatment. In this respect, the observed decreases in C18:0 and *cis*-9 C18:1 content as well as the increases in VA are noteworthy, likewise the RA content in both fat depots ($P < 0.05$) and n-3 PUFA in intramuscular fat ($P < 0.001$).

On the other hand, both fat depots presented differences in their FA profiles. Overall, intramuscular fat had a higher percentage of PUFA together with a lower proportion of SFA (Table 5). Strong coefficients of correlation were established for EPA ($r = 0.86$; $P < 0.001$), DPA ($r = 0.77$; $P < 0.001$), DHA ($r = 0.77$; $P < 0.001$), RA ($r = 0.81$; $P < 0.001$) and VA ($r = 0.86$; $P < 0.001$) between dam milk and suckling lamb intramuscular fats. Suckling lambs preferentially incorporate PUFA into muscle rather than storing them in adipose tissue because of their important metabolic roles. The major presence of PUFA in intramuscular fat is due to the higher proportion of phospholipids in these depots. Phospholipids are essential constituents of cell membranes and require high levels of PUFA to maintain membrane properties and physiological functions.

Table 5. Fatty acid composition (g/100 g of total fatty acid methyl esters) of intramuscular and subcutaneous fat from lambs suckling milk from ewes receiving diets supplemented with Ca soap fatty acids palm (control), olive (OLI) and fish (FO) oil.

	Intramuscular fat					Subcutaneous fat				
	Control	OLI	FO	RSD	P value	Control	OLI	FO	RSD	P value
<i>Saturated (SFA)</i>										
C6:0	0.03	0.03	0.03	0.019	ns	0.04 ^b	0.05 ^b	0.11 ^a	0.031	***
C8:0	0.02	0.02	0.02	0.009	ns	0.07 ^b	0.07 ^b	0.11 ^a	0.032	**
C10:0	0.27 ^{ab}	0.23 ^b	0.36 ^a	0.106	†	0.88	0.89	1.04	0.351	ns
C12:0	0.37	0.40	0.60	0.333	ns	1.22	1.11	1.19	0.524	ns
C13:0	0.05 ^b	0.06 ^b	0.08 ^a	0.022	*	0.08 ^b	0.09 ^b	0.11 ^a	0.029	*
C14:0 <i>iso</i>	0.28 ^b	0.31 ^b	0.52 ^a	0.098	***	0.07	0.07	0.07	0.014	ns
C14:0	4.23	3.84	4.78	1.371	ns	9.00 ^b	10.03 ^{ab}	11.00 ^a	1.710	*
C15:0 <i>iso</i>	0.09 ^b	0.08 ^b	0.11 ^a	0.018	**	0.16 ^b	0.17 ^b	0.21 ^a	0.019	***
C15:0 <i>anteiso</i>	0.10 ^b	0.11 ^b	0.14 ^a	0.027	*	0.18 ^b	0.21 ^{ab}	0.24 ^a	0.046	**
C15:0	0.26 ^b	0.28 ^b	0.38 ^a	0.084	*	0.63 ^b	0.72 ^{ab}	0.84 ^a	0.167	*
C16:0 <i>iso</i>	0.13	0.12	0.13	0.032	ns	0.19	0.20	0.20	0.030	ns
C16:0	22.07 ^a	18.83 ^b	22.15 ^a	2.830	*	31.15 ^a	27.87 ^b	31.91 ^a	2.924	**
C17:0	0.66	0.67	0.75	0.143	ns	0.92 ^b	0.96 ^b	1.21 ^a	0.173	***
C18:0 <i>iso</i>	0.12	0.11	0.11	0.034	ns	0.11	0.09	0.12	0.030	ns
C18:0	12.69 ^a	12.62 ^a	10.16 ^b	1.845	*	11.81 ^a	11.67 ^a	8.38 ^b	1.906	***
C19:0	0.11	0.11	0.13	0.043	ns	0.08	0.07	0.09	0.017	ns
C20:0	0.13	0.12	0.16	0.048	ns	0.11 ^{ab}	0.13 ^a	0.10 ^b	0.028	†
C21:0	0.02	0.03	0.03	0.010	ns	0.01 ^b	0.02 ^{ab}	0.02 ^a	0.005	**
C22:0	0.39 ^b	0.44 ^b	0.57 ^a	0.122	*	0.01	0.01	0.01	0.004	ns
C23:0	0.24 ^b	0.24 ^b	0.42 ^a	0.112	**	0.02 ^b	0.02 ^b	0.05 ^a	0.014	***

(continued)

Table 5. (Continued)

	Intramuscular fat					Subcutaneous fat				
	Control	OLI	FO	RSD	P value	Control	OLI	FO	RSD	P value
<i>Monounsaturated (MUFA)</i>										
<i>cis-9</i> C10:1	0.03	0.03	0.05	0.333	ns	0.06 ^b	0.07 ^b	0.09 ^a	0.030	†
<i>cis-9</i> C14:1	0.18	0.16	0.20	0.052	ns	0.25 ^b	0.32 ^a	0.35 ^a	0.063	**
<i>trans-9</i> C16:1 + C17:0 <i>iso</i>	0.43 ^b	0.50 ^b	0.88 ^a	0.126	***	0.35 ^b	0.38 ^b	0.65 ^a	0.072	***
<i>cis-7</i> C16:1	0.06 ^b	0.06 ^b	0.09 ^a	0.018	**	0.38 ^b	0.35 ^b	0.45 ^a	0.051	***
<i>cis-9</i> C16:1 + C17:0 <i>anteiso</i>	2.32 ^{ab}	1.97 ^b	2.49 ^a	0.439	†	2.40 ^b	2.44 ^b	3.35 ^a	0.405	***
<i>cis-13</i> C16:1	0.08	0.07	0.09	0.022	ns	0.10 ^b	0.13 ^b	0.17 ^a	0.055	**
<i>cis-9</i> C17:1	0.40	0.41	0.41	0.108	ns	0.46 ^b	0.47 ^b	0.59 ^a	0.115	*
<i>trans-6-7-8</i> C18:1	0.20 ^b	0.30 ^a	0.17 ^b	0.083	**	0.29 ^b	0.68 ^a	0.22 ^b	0.099	***
<i>trans-9</i> C18:1	0.22 ^b	0.33 ^a	0.27 ^{ab}	0.093	†	0.29 ^c	0.62 ^a	0.36 ^b	0.088	***
<i>trans-10</i> C18:1	0.27	0.56	0.36	0.441	ns	0.37 ^b	1.11 ^a	0.61 ^b	0.689	*
<i>trans-11</i> C18:1	0.57 ^b	1.27 ^b	3.75 ^a	0.947	***	0.79 ^c	1.97 ^b	5.44 ^a	0.940	***
<i>trans-12</i> C18:1	0.29 ^b	0.43 ^a	0.47 ^a	0.132	*	0.20 ^b	0.48 ^a	0.43 ^a	0.126	***
<i>cis-9</i> C18:1	31.95 ^a	32.22 ^a	20.71 ^b	5.315	***	32.74 ^a	31.25 ^a	23.98 ^b	4.465	***
<i>trans-15</i> + <i>cis-11</i> C18:1	1.35 ^b	1.65 ^b	2.31 ^a	0.513	**	0.52 ^c	0.66 ^b	0.98 ^a	0.126	***
<i>cis-12</i> C18:1	0.49	0.57	0.57	0.228	ns	0.23 ^a	0.27 ^a	0.17 ^b	0.079	*
<i>cis-13</i> C18:1	0.09	0.10	0.13	0.034	ns	0.06 ^b	0.09 ^a	0.09 ^a	0.016	***
<i>trans-16</i> + <i>cis-14</i> C18:1	0.23	0.25	0.27	0.091	ns	0.27 ^b	0.36 ^a	0.19 ^c	0.0978	**
<i>cis-15</i> C18:1	0.10 ^b	0.11 ^b	0.20 ^a	0.053	**	0.07 ^c	0.10 ^b	0.14 ^a	0.041	***
<i>cis-11</i> C20:1	0.14 ^b	0.18 ^a	0.17 ^a	0.040	†	0.08 ^c	0.11 ^b	0.17 ^a	0.049	***
<i>Non conjugated C 18:2</i>										
<i>trans-11, trans-15</i> C18:2	0.07 ^b	0.09 ^b	0.13 ^a	0.032	**	0.01 ^b	0.02 ^b	0.05 ^a	0.016	***
<i>trans-11, cis-15</i> C18:2	0.08 ^b	0.11 ^b	0.37 ^a	0.075	***	0.04 ^b	0.17 ^b	0.51 ^a	0.215	***
C18:2 n-6	8.41	8.32	7.82	1.559	ns	1.48 ^a	1.02 ^b	0.93 ^b	0.307	***
Other non-conjugated C18:2	0.55	0.61	0.67	0.152	ns	0.50 ^b	0.69 ^a	0.48 ^b	0.125	***

Table 5. (Continued)

	Intramuscular fat					Subcutaneous fat				
	Control	OLI	FO	RSD	P value	Control	OLI	FO	RSD	P value
Conjugated C18:2										
<i>cis-9, trans-11</i> C18:2	0.36 ^b	0.70 ^b	1.66 ^a	0.425	***	0.18 ^b	0.37 ^a	0.37 ^a	0.200	*
<i>trans-9, cis-11</i> C18:2	0.02	0.03	0.03	0.010	ns	0.008 ^b	0.011 ^a	0.009 ^{ab}	0.004	†
<i>trans-10, cis-12</i> C18:2	0.02 ^a	0.01 ^a	0.02 ^b	0.007	*	0.004 ^c	0.005 ^b	0.006 ^a	0.001	***
<i>trans-11, cis-13</i> C18:2	0.03 ^b	0.03 ^b	0.06 ^a	0.020	**	0.005 ^b	0.006 ^b	0.01 ^a	0.004	**
<i>trans-12, trans-14</i> C18:2	0.03 ^b	0.03 ^b	0.05 ^a	0.013	**	0.01 ^b	0.01 ^b	0.02 ^a	0.003	***
<i>trans-11, trans-13</i> C18:2	0.02 ^c	0.03 ^b	0.05 ^a	0.011	***	0.01	0.01	0.01	0.007	ns
Other <i>trans-trans</i> C18:2	0.05	0.06	0.06	0.014	ns	0.04 ^b	0.04 ^b	0.05 ^a	0.015	†
Other PUFA										
C18:3 n-6	0.11	0.13	0.13	0.030	ns	0.02	0.03	0.02	0.019	ns
C18:3 n-3	0.43 ^b	0.50 ^b	0.96 ^a	0.385	*	0.13	0.14	0.15	0.051	ns
<i>cis-9, trans-11, cis-15</i> C18:3	0.54 ^b	0.85 ^a	0.72 ^{ab}	0.275	†	0.02 ^c	0.03 ^b	0.08 ^a	0.017	***
<i>cis-9, trans-11, trans-15</i> C18:3	0.03 ^b	0.02 ^b	0.06 ^a	0.014	***	0.003 ^b	0.006 ^b	0.010 ^a	0.005	**
C20:3 n-6	0.08 ^b	0.07 ^b	0.10 ^a	0.019	*	0.01	0.01	0.01	0.003	ns
C20:4 n-6	4.49	5.01	4.37	1.419	ns	0.04	0.04	0.02	0.020	ns
C20:5 n-3	0.44 ^b	0.58 ^b	2.72 ^a	0.848	***	0.02	0.02	0.03	0.026	ns
C22:4 n-6	0.16	0.19	0.22	0.063	ns	0.01	0.01	0.02	0.016	ns
C22:5 n-3	1.02 ^b	1.23 ^b	2.21 ^a	0.470	***	0.03	0.03	0.04	0.022	ns
C22:6 n-3	0.62 ^b	0.72 ^b	1.53 ^a	0.389	***	0.02 ^a	0.02 ^a	0.02 ^b	0.009	*
SFA	42.24	38.63	41.63	3.756	ns	56.87	54.57	57.26	3.928	ns
MUFA	39.54 ^a	41.32 ^a	33.75 ^b	4.403	**	39.96	41.96	38.58	3.861	ns
PUFA	17.54 ^b	19.31 ^b	23.95 ^a	4.000	*	2.55	2.66	2.86	0.548	ns
CLA TOTAL	0.48 ^c	0.83 ^b	1.87 ^a	0.428	***	0.24 ^b	0.45 ^a	0.48 ^a	0.198	*

(continued)

Table 5. (Continued)

	Intramuscular fat					Subcutaneous fat				
	Control	OLI	FO	RSD	P value	Control	OLI	FO	RSD	P value
Ratios										
14:1 desaturase index ¹	0.04	0.04	0.04	0.007	ns	0.03	0.03	0.03	0.004	ns
18:1 desaturase index ¹	0.74	0.75	0.74	0.029	ns	0.75 ^b	0.76 ^b	0.80 ^a	0.027	***
CLA desaturase index ¹	0.39 ^a	0.37 ^a	0.31 ^b	0.040	**	0.18 ^a	0.19 ^a	0.07 ^b	0.085	**
n-6/n-3	5.44 ^a	5.04 ^a	1.80 ^b	1.495	***	8.32 ^a	5.56 ^b	4.33 ^c	1.280	***

¹ 14:1 desaturase index = *cis-9* C14:1/(C14:0 + *cis-9* C14:1); 18:1 desaturase index = *cis-9* C18:1/ (C18:0 + *cis-9* C18:1); CLA desaturase index = *cis-9, trans-11* C18:2/(*trans-11* C18:1 + *cis-9, trans-11* C18:2).

RSD = residual standard deviation; MUFA: monounsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids; SFA: saturated fatty acids;

† P < 0.10, * P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001

^{a-c} Means within a row with different superscripts differ significantly

The intramuscular fat depots obtained from the FO suckling lambs had the highest levels of VA and RA, and a significant positive correlation was observed between both FA in this tissue ($r = 0.98$, $P < 0.001$). This result was probably due to the dual origin of RA, derived both from the diet as well as by endogenous synthesis from VA. The fact that RA is less abundant in the subcutaneous depot could be partly explained by the greater Δ^9 -desaturase, activity in intramuscular tissue (Table 5). These results coincide with those of Palmquist et al. (2004) who reported a higher endogenous synthesis of RA from VA in muscle than in lamb adipose tissue.

In spite of being more abundant in Control than in OLI and FO milk, linoleic acid contents were found to be similar ($P > 0.05$) in carcass intramuscular deposits in all treatments (Table 5). These results indicate that diet influenced the muscle content of n-3 FA more than that of linoleic acid, in accordance with previous observations in lamb (Palmquist et al., 2004). Furthermore, Wood et al. (2008) reported that in meat fat, linoleic acid incorporation in relation to the amount in the diet is greater than for other FA. However, despite the increase in n-6 FA, the n-6/n-3 ratio decreased 3-fold with the FO diet ($P < 0.001$) compared to Control and OLI diets. This value in intramuscular fat (Table 5) is clearly below 4, which would make this fat highly recommendable for consumption (Simopoulos, 2008). Intramuscular fat is irreversibly connected with meat and it cannot be removed before human consumption, unlike visible fat, such as subcutaneous fat. In addition, given the higher PUFA and CLA composition and the lower SFA content of intramuscular fat compared with removable depot fat, the relevance of intramuscular fat for the intake of PUFA and other potential FA may be greater than expected at first sight.

6. Conclusions

The supplementation of ewe diets with different CSFA did modify the FA profile of milk fat. CSFAs of fish oil produced more important changes than the supplementation of the ewe diet with CSFA of olive oil. Although in the assayed conditions, the addition of CSFA of fish oil decreased the milk fat content, it also significantly increased healthy FA, such as n-3 PUFA and RA. Moreover, this took place without a simultaneous increase in either SFA or *trans* FA such as *trans-10* C18:1, with potentially negative effects on consumers' health. This milk FA profile was reflected in the intramuscular

and subcutaneous fat of suckling lambs, which would make this nutritional strategy adequate for producing ruminant products with a healthier FA profile.

7. References

- AbuGhazaleh, A.A., Jenkins, T.C., 2004. Docosahexaenoic acid promotes vaccenic acid accumulation in mixed rumen cultures when incubated with linoleic acid. *Journal of Dairy Science* 87, 1047-1050.
- Association of Official Analytical Chemists 2003. Official Method of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 17th Ed. AOAC International, Gaithersburg (USA).
- Arana, A., Mendizabal, J.A., Alzón, M., Eguinoa, P., Beriain, M.J., Purroy, A., 2006. Effect of feeding lambs oleic acid calcium soaps on growth, adipose tissue development and composition. *Small Ruminant Research* 63, 75-83.
- Awawdeh, M.S., Obeidat, B.S., Kridli, R.T., 2009. Yellow grease as an alternative energy source for nursing Awassi ewes and their suckling lambs. *Animal Feed Science and Technology* 152, 165-174.
- Bichi, E., Toral, P.G., Hervás, G., Frutos, P., Gómez-Cortés, P., Juárez, M., De la Fuente, M.A., 2012. Inhibition of $\Delta 9$ -desaturase activity with sterculic acid: effect on the endogenous synthesis of *cis*-9 18:1 and *cis*-9 *trans*-11 18:2 in dairy sheep. *Journal of Dairy Science* 95, 5242-5252.
- Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37, 911-917.
- 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.
- Casals, R., Caja, G., Pol, M.V., Such, X., Albanell, E., Gargouri, G., Casellas, J., 2006. Response of lactating dairy ewes to various levels of dietary calcium soaps of fatty acids. *Animal Feed Science and Technology* 131, 312-332.
- Doreau, M., Fievez, V., Troegeler-Meynadier, A., Glasser, F., 2012. Métabolisme ruminal et digestion des acides gras longs chez le ruminant: le point des connaissances récentes. *INRA Productions Animales* 25, 361-374.
- Gama, M.A.S., Garnsworthy, P.C., Griinari, J.M., Leme, P.R., Rodrigues, P.H.M., Souza, L.W.O., Lanna, D.P.D., 2008. Diet-induced milk fat depression: association with changes in milk fatty acid composition and fluidity of milk fat. *Livestock Science* 115, 319-331.
- Gargouri, A., Caja, G., Casals, R., Mezghan, I., 2006. Lactational evaluation of effects of calcium soap of fatty acids on dairy ewes. *Small Ruminant Research* 66, 1-10.
- Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Mantecón, A.R., Juárez, M., De la Fuente, M.A., Hervás, G., 2008. Addition of olive oil to dairy ewe diets: Effect on milk fatty acid profile and animal performance. *Journal of Dairy Science* 91, 3119-3127.
- Hussein, M., Harvatine, K.H., Weerasinghe, P.B., Sinclair, L.A., Bauman, D.E., 2013. Conjugated linoleic acid-induced milk fat depression lactating ewes is accompanied by reduced expression of mammary genes involved in lipid synthesis. *Journal of Dairy Science* 96, 3825-3834.
- International Dairy Federation 2000. International IDF standard 141C:2000. Determination of milk fat, protein and lactose content. Guidance on the operation of mid-infrared instruments. International Dairy Federation, Brussels (Belgium).
- ISO-IDF. 2002. Milk fat—Preparation of fatty acid methyl esters. International Standard ISO 15884-IDF 182: 2002. International Dairy Federation, Brussels (Belgium).
- Jenkins, T.C., Bridges, W.C., 2007. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 778-789.
- Joy, M., Ripoll, G., Molino, F., Dervishi, E., Alvarez-Rodríguez, J., 2012. Influence of the type of forage supplied to ewes in pre- and post-partum periods on the meat fatty acids of suckling lambs. *Meat Science* 90, 775-782.

- Kitessa, S.M., Gulati, S.K., Ashes, J.R., Fleck, E., Scott, T.W., Nichols, P.D., 2001. Utilisation of fish oil in ruminants - I. Fish oil metabolism in sheep. *Animal Feed Science and Technology* 89, 189-199.
- Kitessa, S.M., Peake, D., Bencini, R., Williams, A.J., 2003. Fish oil metabolism in ruminants: III. Transfer of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) from tuna oil into sheep's milk. *Animal Feed Science and Technology* 108, 1-14.
- Luna, P., Bach, A., Juárez, M., De la Fuente, M.A., 2008. Effect of a diet enriched in whole linseed and sunflower oil on goat milk fatty acid composition and conjugated linoleic acid isomer profile. *Journal of Dairy Science* 91, 20-28.
- Manso, T., Bodas, R., Vieira, C., Mantecón, A.R., Castro, T., 2011. Feeding vegetable oils to lactating ewes modifies the fatty acid profile of suckling lambs. *Animal* 5, 1659-1667.
- Micha, R., Mozaffarian, D., 2010. Saturated Fat and Cardiometabolic Risk Factors, Coronary Heart Disease, Stroke, and Diabetes: a Fresh Look at the Evidence. *Lipids* 45, 893-905.
- Mosley, E.E., Powell, G.L., Riley, M.B., Jenkins, T.C., 2002. Microbial biohydrogenation of oleic acid to trans isomers in vitro. *Journal of Lipid Research* 43, 290-296.
- Or-Rashid, M.M., Kramer, J.K.G., Wood, M.A., McBride, B.W., 2008. Supplemental algal meal alters the ruminal trans-18:1 fatty acid and conjugated linoleic acid composition in cattle. *Journal of Animal Science* 86, 187-196.
- Osorio, M.T., Zumalacárregui, J.M., Figueira, A., Mateo, J., 2007. Fatty acid composition in subcutaneous, intermuscular and intramuscular fat deposits of suckling lamb meat: Effect of milk source. *Small Ruminant Research* 73, 127-134.
- Palmquist, D.L., St-Pierre, N., McClure, K.E., 2004. Tissue fatty acid profiles can be used to quantify endogenous rumenic acid synthesis in lambs. *Journal of Nutrition* 134, 2407-414.
- Pérez Alba, L.M., De Souza Cavalcanti, S., Pérez Hernández, M., Martínez Marín, A., Fernández Marín, G., 1996. Calcium soap of olive fatty acids in the diets of Manchega dairy ewes: Effects on digestibility and production. *Journal of Dairy Science* 80, 3316-3324.
- Perfield, J.W., Lock, A.L., Griinari, J.M., Sæbø, A., Delmonte, P., Dwyer, D.A., Bauman, D.E., 2007. Trans-9, cis-11 conjugated linoleic acid reduces milk fat synthesis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90, 2211-2218.
- Pulina, G., Nudda, A., Battaccone, 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.
- Scerra, M., Caparra, P., Foti, F., Galofaro, V., Sinatra, M.C., Scerra, V., 2007. Influence of ewe feeding systems on fatty acid composition of suckling lambs. *Meat Science* 76, 390-394.
- Shingfield, K.J., Reynolds, C.K., Hervás, G., Griinari, J.M., Grandison, A.S., Beever, D.E., 2006. Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89, 714-732.
- Shingfield, K.J., Sæbø, A., Sæbø, P.C., Toivonen, V., Griinari, J.M., 2009. Effect of abomasal infusions of a mixture of octadecenoic acids milk fat synthesis in lactating cows. *Journal of Dairy Science* 92, 4317-4329.
- 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.
- Simopoulos, A.P., 2008. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine* 233, 674-688.
- Sinclair, L.A., Lock, A.L., Early, R., Bauman, D.E., 2007. Effects of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on ovine milk fat synthesis and cheese properties. *Journal of Dairy Science* 90, 3326-3335.
- 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.
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I., Wittington, F.M., 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science* 78, 343-358.

V. Prueba 2

EFFECTS OF EXTRUDED LINSEED SUPPLEMENTATION OF LACTATING EWES ON THE FATTY ACID PROFILE OF THEIR SUCKLING LAMB

Efecto de la suplementación de la dieta de ovejas en lactación con semilla extrusionada de lino sobre el perfil de ácidos grasos de sus corderos lechales

1. Resumen

El principal objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación de la dieta de ovejas en lactación con semilla extrusionada de lino sobre el perfil de ácidos grasos (FA) de la grasa intramuscular y subcutánea de los corderos lechales. Veinticuatro ovejas en gestación de raza Churra fueron divididas en dos grupos iguales y cada grupo fue asignado a uno de los dos tratamientos experimentales. Cada oveja del tratamiento Control fue suplementada con 70 g/día de FA de un jabón cálcico de aceite de palma, mientras que la dieta del otro tratamiento (LIN) fue suplementada con 128 g/día de semilla extrusionada de lino. Todos los corderos se alimentaron exclusivamente de leche materna y fueron sacrificados cuando alcanzaron el peso vivo de 11 kg. El perfil de ácidos grasos de la leche y de la carne de los corderos (grasa intramuscular y subcutánea) fueron determinados por GC. Los rendimientos productivos de los corderos no fueron afectados por los tratamientos y la grasa de la canal del tratamiento LIN mostró mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). El porcentaje de los ácidos α -linolénico (C18:3 n-3; $P < 0,001$), docosahexanoico (C22:6 n-3; $P < 0,05$), vacénico (*trans-11* C18:1; $P < 0,001$) y ruménico (*cis-9, trans-11* C18:2; $P < 0,001$) fueron mayores en los corderos lechales del tratamiento LIN. Además, la grasa de la carne de la canal del tratamiento LIN mostró una menor relación n-6/n-3 ($P < 0,001$) que las muestras del tratamiento Control. La grasa intramuscular mostró claramente un mayor contenido en PUFA, incluyendo *cis-9, trans-11* C18:2 y una menor relación n-6/n-3 que la grasa subcutánea. Esta investigación confirma que la suplementación de la dieta de ovejas en lactación con semilla extrusionada de lino mejora la calidad nutricional de los depósitos grasos de la canal de los corderos lechales producidos.

Palabras claves: cordero lechal, ácido graso, intramuscular, subcutánea, carne, semilla extrusionada de lino

2. Abstract

The main objective of this study was to evaluate the effects of supplementing lactating ewe diets with extruded linseed on the fatty acid (FA) composition of intramuscular and subcutaneous fat depots of suckling lambs. Twenty-four pregnant Churra ewes were divided into two equal groups, each group assigned to one of two treatments. Each ewe of the Control treatment was supplemented with 70 g/day of FAs from a calcium soap of palm oil, while the diet of the other treatment group (LIN) was supplemented with 128 g/day of extruded linseed. All lambs were reared exclusively on milk and were slaughtered when they reached 11 kg live weight. FA profiles of milk and lamb meat (intramuscular and subcutaneous depots) were determined by GC. Lamb performance was not affected by the treatments and carcass fat from the LIN treatment showed higher ($P < 0.001$) proportions of polyunsaturated fatty acids (PUFA). The percentages of α -linolenic acid (C18:3 n-3; $P < 0.001$), docosahexaenoic (C22:6 n-3; $P < 0.05$), vaccenic (*trans-11* C18:1; $P < 0.001$) and rumenic (*cis-9, trans-11* C18:2; $P < 0.001$) acids were higher in LIN suckling lambs. Furthermore, meat fat from LIN carcasses displayed a lower ($P < 0.001$) n-6/n-3 ratio than Control samples. Intramuscular depots clearly showed a greater content of PUFA, including *cis-9, trans-11* C18:2, and a lower n-6/n-3 ratio than subcutaneous fat. This research concludes confirms that dietary extruded linseed supplementation of lactating ewes enhances the nutritional quality of suckling lamb carcass fat depots.

Keywords: Suckling lamb; fatty acid; intramuscular; subcutaneous; meat; extruded linseed.

3. Introduction

Suckling lamb meat is widely consumed in some geographical areas of the world such as in Mediterranean countries and is an important commodity in the north of Spain. These lambs, reared exclusively on dam milk, are slaughtered at 30-35 days of age and usually at 10-12 kg of body weight. Lamb producers are trying to adapt their product to

consumer preferences in order to enhance sales. In recent years there has been a growing interest in healthy food and more specifically in increasing the n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) and conjugated linoleic acid (CLA) content in meat (Raes et al., 2004; Schmid et al., 2006; Wood et al., 2008).

It is well documented that the n-3 PUFA have different beneficial effects on neural function, reduce the risk of cardiovascular events, and manifest anti-inflammatory activity and lipid lowering potential (Simopoulos, 2008; Kaur et al., 2011). On the other hand, the most important isomer of CLA in ruminants, *cis*-9, *trans*-11 C18:2 (rumenic acid, RA), is thought to have anticarcinogenic and antiatherosclerotic properties (Lock et al., 2009). Furthermore, *trans*-11 C18:1 (vaccenic acid, VA), the major *trans* fatty acid (FA) in ruminant fats and the precursor of RA in tissues, may also impart additional health benefits to those associated with this CLA isomer (Field et al., 2009).

In humans, ruminant derived foods represent the major dietary source of CLA, with meat accounting for about 25%. Moreover, the highest CLA content in meat has been found in lamb (Bauman et al., 2006; Schmid et al., 2006). Meat FA composition depends on several factors, with diet being one of the most relevant (Raes et al., 2004; Schmid et al., 2006; Wood et al., 2008). Suckling lambs are functional nonruminants, so there is no ruminal biohydrogenation of the milk FA before intestinal absorption. Therefore, changes in milk FA composition due to supplements in the dam diet, can induce important differences in the FA profile of the meat and fat depots of the suckling lamb (Lanza et al., 2006; Osorio et al., 2007; Manso et al., 2011).

Several strategies have been tested in recent years to improve the FA profile of ewe fat, focused on enhancing the content of VA, RA and C18:3 n-3 (α -linolenic acid, ALA) in derived foods. Fresh pasture has been shown to be an excellent source of ALA to increase this FA in milk (Gómez-Cortés et al., 2009a) and subsequently in suckling lamb meat fat (Scerra et al., 2007). When fresh pasture is not available, linseed supplementation (oil or seed) is a reliable alternative feeding strategy to enrich the VA, RA and n-3 PUFA content in milk fat from ewes (Gómez-Cortés et al., 2009b; Bodas et al., 2010; Mele et al., 2011). Nevertheless, dietary fat rich in PUFA, like linseed supplements, may significantly alter the ruminal microbial ecosystem (Palmquist and Jenkins, 1980) and may negatively affect milk production (Palmquist et al., 2005). Vegetable oils have a more depressing effect on ruminal digestion than oilseeds, and

processed oilseeds (extruded, rolled, micronized, roasted...) are more effective at increasing milk CLA content than raw seeds but less efficient than free oil (Doreau et al., 2009a; Doreau et al., 2009b). Extrusion, the most common technique used, has been proposed in order to decrease ruminal degradability and reduce the negative effects of PUFA on the ruminal environment (Mughetti et al., 2007).

Although some studies have examined the effects that including extruded linseed in the dam's diet have on the FA profile of the suckling kid's intramuscular fat (Nudda et al., 2008), less information is available on the transfer of healthy FA from ewes milk to suckling lambs. The aim of the present work was to investigate whether the supplementation of Churra ewe diet with extruded linseed would be a suitable strategy for improving the intramuscular and subcutaneous FA composition of their suckling lambs, without detrimentally affecting animal performance. Calcium soap of palm oil was used as a control because it is a saturated fat commonly used in sheep feeding.

4. Material and methods

4.1. Animal and experimental diets

Twenty-four pregnant Churra ewes (mean BW 58.56 ± 1.685 kg) were selected before lambing and fed the same Control diet that they received during the experimental period but without added fat. Two days after lambing, each ewe based on their milk production, age, initial BW and parity in randomization was assigned to one of two experimental diets (12 ewes per treatment) and individually fed during the whole experimental period.

The experimental diets consisted of a total mixed ration (TMR), but varied according to the type of fat: Control, with 3% of calcium soap of palm oil fatty acids (Magnapac[®], Norel Animal Nutrition, Madrid, Spain) and LIN, with 9% of a product consisting of 70% extruded linseed and 30% wheat middlings (Valomega[®], Valorex SAS, La Messayais, Combourtille, France,). Experimental diets (Control and LIN) were formulated to be isonitrogenous and isoenergetic and to have the same amount of fat.

Each ewe was individually fed and a total of 2.1 kg DM of the corresponding experimental diet was supplied twice a day, plus 210 g of barley straw/ewe/day and fresh water *ad libitum*. Each ewe consumed the whole amount of TMR supplied daily.

The ingredients and chemical composition of the experimental diets are given in Table 1. Samples of diets were taken once a week during the whole experimental period and their chemical composition was determined using the procedures described by the AOAC (2003). There were no statistical differences in chemical composition between experimental diets.

Table 1. Ingredients and chemical composition of experimental diets

	Control	LIN
Ingredients, % as fed		
Dehydrated alfalfa	39.3	37.0
Soybean meal	13.9	12.9
Corn grain	11.8	11.1
Oat grain	10.4	9.7
Barley grain	7.8	7.4
Beet pulp	7.8	7.4
Molasses	4.9	4.6
Calcium soap of palm oil ^a	3.0	-
Extruded linseed ^b	-	9.0
Vitamin mineral premix	1.0	0.9
Chemical composition, % DM		
DM, %	88.9	88.8
Ash	9.1	8.9
NDF	28.3	26.6
ADF	17.6	16.5
Crude Protein	16.9	17.7
Ether extract	5.3	5.2
ME ^c	11.6	11.6

^a Calcium soap of palm oil (Magnapac[®], Norel Animal Nutrition, Madrid, Spain) contained (% identified fatty acids) C12:0 (0.26), C14:0 (1.20), C16:0 (46.9), C18:0 (40.7) and C18:1 (9.70).

^b Extruded linseed (VALOMEGA[®], S.A.S. Valorex, La Messayais, Combourtille, France). Product consisted of 30% wheat middlings and 70% extruded linseed. Fatty acid composition (% identified fatty acids): C12:0 (0.05), C14:0 (0.10), C16:0 (6.40), C18:0 (4.00), C18:1 (15.10), C18:2 (18.20) and C18:3 (54.30).

^c ME: metabolizable energy (MJ/Kg DM) estimated using FEDNA (2003)

The newborn lambs (12 per treatment), covered by the protected geographical indication ‘Lechazo de Castilla y León’, were housed with their respective mothers all day long and were fed exclusively by suckling throughout the experimental period. All animal handling practices followed the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes.

4.2. Milk sampling and composition

The ewes were milked once a day in a 2 x 24 low-line Casse system milking parlour, with twelve milking units and two milkers. The milking machine (Alfa-Laval Iberia, S.A., Madrid, Spain) was set to provide 180 pulsations per minute in a 50:50 ratio at a vacuum level of 36 kPa. Once a week, individual ewe milk production was recorded and samples were taken in milk collection jars. One sub-sample of milk was kept at 4°C until analysed for fat and protein, in accordance with the International Dairy Federation (IDF, 2000), using a MilkoScan-400 analyser (Foss Electric, Hillerød, Denmark). Aliquots from weeks 2 and 4 of the experimental period were stored at –80°C for FA analysis.

4.3. Slaughter procedure, carcass and meat measurements

Lambs were weighed twice a week until they reached the intended body weight (11 kg). At the conclusion of the trial, 2 or 3 suckling lambs from each group were transported to a commercial EU-licensed abattoir on 4 different days and slaughtered ($26,6 \pm 4,60$ days of age). At the abattoir, the live weight of the suckling lambs was recorded, the lambs were slaughtered and carcasses were immediately transferred to a cooler at 4°C. After 24 hours, carcasses were weighed again (cold carcass weight, CCW) and chilling losses were calculated as the difference between HCW and CCW expressed as a proportion of the initial HCW. Dressing percentage was calculated as the ratio of CCW to slaughter live weight. Samples tissues of *m. Longissimus dorsi* (dissected from between the 6th and the 13th rib) and subcutaneous dorsal fat (dissected from the rump) were frozen at –80°C until FA analyses.

4.4. Fatty acid analysis

Milk fat was extracted following the method described by Luna et al., (2005) and intramuscular fat using the method described by Bligh and Dyer (1959). Subcutaneous fat was extracted by fusion of individual samples.

Milk FA composition (individual samples from week 2 and 4 of the suckling period) and fat depots (intramuscular and subcutaneous) were determined by gas-liquid chromatography. Fatty acid methyl esters (FAME) were prepared according to ISO-IDF (2002). Analysis of FAME was performed on a gas-liquid chromatograph (Agilent 6890 N Network System) onto a CP-Sil 88 fused silica capillary column (100 m X 0.25 mm, Varian, Middelburg, Netherlands) under similar conditions to those reported by Luna et al., (2008). Individual FAME quantification was performed using a milk fat with known composition (CRM 164; European Community Bureau of Reference, Brussels, Belgium). Individual FA were identified by comparison with standards distributed by Nu-Chek (Elysian, MN, USA), while *trans*-11 *cis*-15 C18:2, *trans*-11 *trans*-15 C18:2, *cis*-9 *trans*-11 *cis*-15 C18:3 (Rumelenic acid, ClnA) and *cis*-9 *trans*-11 *trans*-15 C18:3 had previously been identified by GC-MS/MS (Gómez-Cortés et al., 2009c).

Desaturase indices were calculated as follows: 14:1 desaturase index = $C14:1 / (C14:0 + C14:1)$, 18:1 desaturase index = $C18:1 / (C18:0 + C18:1)$ and CLA desaturase index = $cis-9, trans-11 C18:2 / (cis-9, trans-11 C18:2 + trans-11 C18:1)$.

4.5. Statistical analysis

Average daily gain was estimated by regression of live weight against time, using the REG procedure. Data regarding milk yield and composition (FA included) were analysed by repeated-measures analyses using the MIXED procedure and including the fixed effects of the diet (diet, D), week of sampling (time, T) and their interaction (D × T). The rest of the parameters were statistically analysed by one-way analysis of variance using the general linear model (PROC GLM). The CORR procedure was used to calculate the correlation coefficients of the FA between milk and fat depots. Statistical procedures were conducted using the SAS 9.2. software package (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). The statistical significance of differences were defined as P values < 0.05 and trends as P values < 0.10.

5. Results

Average daily milk yield and milk composition of the dams are recorded in Table 2. Milk, fat and protein yields and protein and fat content were not modified ($P > 0.10$) by dietary treatments.

Table 2. Milk production and chemical composition of milk.

	Diets ^a		SED	P value ^b		
	Control	LIN		D	T	D x T
Yield, g/d						
Milk	1686.7	1847.4	302.36	ns	ns	ns
Fat	89.2	86.2	20.59	ns	ns	ns
Protein	73.6	82.7	13.01	ns	ns	ns
Composition, %						
Fat	5.42	4.49	0.750	ns	ns	ns
Protein	4.42	4.51	0.166	ns	ns	ns

^aDiets supplemented with calcium soaps of palm oil (Control) and extruded linseed (LIN).

^bEffects caused by dietary treatment (D), time on diet (T), and their interaction (D x T).

SED: standard error of the difference.

Table 3 shows the FA profile of milk fats from ewes fed Control and LIN diets. There were large differences in milk FA profiles due to the type of fat added to the ewe's diet, whereas the effects of time were limited. Dietary inclusion of extruded linseed increased the percentage of C12:0 ($P < 0.05$), C14:0 ($P < 0.01$) and C18:0 ($P < 0.01$) but reduced the C16:0 content ($P < 0.001$) by 25%. Oleic acid was the prevailing mono-unsaturated FA observed in milk fat from both treatments and its content was lower ($P < 0.001$) in ewes fed with the LIN diet. Most of the *trans* C18:1 isomers increased in LIN milk samples, mainly VA (3.5-fold; $P < 0.001$).

The percentage of linoleic acid (*cis*-9, *cis*-12 C18:2) was lower ($P < 0.001$) but the proportion of RA and other CLA isomers, i.e. *trans*-11, *cis*-13 C18:2, *trans*-11, *trans*-13 C18:2 and *trans*-12, *trans*-14 C18:2, were higher ($P < 0.001$) in the LIN treatment than in Control. RA milk content followed a similar trend to VA, with a 2.4-fold increase when extruded linseed was supplemented, whereas the content of *trans*-10 *cis*-12 isomer was very low with both diets. Among non-conjugated C18:2 isomers, the highest percentage ($P < 0.001$) corresponded to the *trans*-11, *cis*-15 in LIN samples.

Table 3. Milk fatty acid profile (g/100 g of total fatty acid methyl esters)

	Diets ^a		SED	P value ^b		
	Control	LIN		D	T	D x T
Saturated (SFA)						
C4:0	4.54	4.64	0.189	ns	ns	ns
C6:0	2.87	3.52	0.216	***	ns	ns
C8:0	2.36	3.01	0.254	***	ns	ns
C10:0	6.03	7.69	0.773	**	*	ns
C12:0	3.18	3.80	0.366	*	†	ns
C13:0 <i>iso</i>	0.015	0.021	0.0017	***	ns	ns
C13:0 <i>anteiso</i>	0.024	0.025	0.0034	ns	**	ns
C13:0	0.090	0.097	0.0130	ns	*	ns
C14:0 <i>iso</i>	0.074	0.075	0.0057	ns	ns	ns
C14:0	7.47	8.62	0.480	**	*	ns
C15:0 <i>iso</i>	0.17	0.20	0.011	***	ns	ns
C15:0 <i>anteiso</i>	0.26	0.33	0.019	***	ns	ns
C15:0	0.63	0.70	0.039	**	ns	ns
C16:0 <i>iso</i>	0.19	0.20	0.014	ns	ns	ns
C16:0	27.10	20.15	0.992	***	*	ns
C17:0	0.61	0.55	0.077	ns	*	ns
C18:0 <i>iso</i>	0.079	0.058	0.0102	**	*	ns
C18:0	11.09	12.84	0.840	**	**	ns
C20:0	0.18	0.17	0.008	†	ns	ns
C21:0	0.037	0.044	0.0027	**	ns	ns
C22:0	0.060	0.063	0.0040	ns	ns	ns
C23:0	0.032	0.032	0.0027	ns	ns	ns
C24:0	0.027	0.030	0.0021	*	ns	ns
Monounsaturated (MUFA)						
<i>cis</i> -9 C10:1	0.19	0.22	0.031	ns	**	ns
<i>cis</i> -9 C14:1	0.086	0.085	0.0136	**	**	ns
<i>cis</i> -9 C15:1	0.063	0.073	0.0049	**	ns	ns
<i>trans</i> -9 C16:1+ C17:0 <i>iso</i>	0.32	0.47	0.025	***	**	*
<i>cis</i> -7 C16:1	0.27	0.25	0.011	*	ns	ns
<i>cis</i> -9 C16:1 + C17:0 <i>anteiso</i>	0.99	0.80	0.054	***	ns	ns
<i>cis</i> -13 C16:1	0.039	0.043	0.0086	ns	*	ns
<i>cis</i> -9 C17:1	0.22	0.16	0.035	*	ns	ns
<i>trans</i> -4 C18:1	0.028	0.024	0.0025	†	ns	ns
<i>trans</i> -5 C18:1	0.030	0.026	0.0024	**	ns	ns
<i>trans</i> -6 +7+8 C18:1	0.32	0.38	0.033	**	ns	ns
<i>trans</i> -9 C18:1	0.26	0.34	0.024	***	ns	ns
<i>trans</i> -10 C18:1	0.39	0.60	0.167	†	ns	ns
<i>trans</i> -11 C18:1	0.85	3.03	0.393	***	†	†
<i>trans</i> -12 C18:1	0.32	0.54	0.048	***	ns	ns
<i>cis</i> -9 C18:1	23.28	17.69	1.977	***	ns	ns
<i>trans</i> -15 + <i>cis</i> -11 C18:1	0.50	0.73	0.028	***	ns	ns
<i>cis</i> -12 C18:1	0.21	0.61	0.042	***	ns	ns

(continued)

Table 3. (Continued)

	Diets ^a		SED	P value ^b		
	Control	LIN		D	T	D x T
Monounsaturated (MUFA)						
<i>cis</i> -13 C18:1	0.044	0.066	0.0058	***	ns	ns
<i>trans</i> -16 + <i>cis</i> -14 C18:1	0.30	0.59	0.032	***	ns	ns
<i>cis</i> -15 C18:1	0.054	0.295	0.0248	***	ns	ns
<i>cis</i> -16 C18:1	0.063	0.064	0.0077	ns	ns	ns
<i>cis</i> -11 C20:1	0.053	0.043	0.0040	**	*	ns
Non conjugated C18:2						
<i>trans</i> -11, <i>trans</i> -15 C18:2	0.012	0.119	0.0182	***	ns	ns
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15 C18:2	0.034	0.799	0.114	***	ns	ns
C18:2 n-6	2.40	1.81	0.099	***	ns	ns
Other non conjugated C18:2	0.38	0.63	0.049	***	ns	ns
Conjugated C18:2						
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 C18:2	0.37	0.89	0.114	***	ns	ns
<i>trans</i> -9, <i>cis</i> -11 C18:2	0.006	0.008	0.0017	†	ns	ns
<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 C18:2	0.006	0.004	0.0011	*	ns	ns
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -13 C18:2	0.006	0.047	0.0084	***	†	ns
<i>trans</i> -12, <i>trans</i> -14 C18:2	0.010	0.073	0.0062	***	**	**
<i>trans</i> -11, <i>trans</i> -13 C18:2	0.014	0.059	0.0064	***	ns	ns
Other <i>trans-trans</i> conjugated C18:2	0.018	0.012	0.0029	**	ns	ns
Other PUFA						
C18:3 n-6 (γ -Linolenic acid)	0.040	0.022	0.0040	***	ns	ns
C18:3 n-3 (α -Linolenic acid)	0.31	0.94	0.075	***	ns	ns
C18:3 (<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15)	0.030	0.106	0.0126	***	ns	ns
C18:3 (<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11, <i>trans</i> -15)	0.006	0.039	0.0058	***	ns	ns
C20:3 n-6	0.018	0.010	0.0022	***	ns	ns
C20:4 n-6 AA	0.12	0.10	0.011	***	ns	ns
C20:5 n-3 EPA	0.030	0.060	0.0055	***	ns	ns
C22:4 n-6	0.020	0.013	0.0018	***	ns	*
C22:5 n-3 DPA	0.072	0.100	0.0083	***	ns	ns
C22:6 n-3 DHA	0.029	0.044	0.0052	***	ns	ns
SFA	67.11	66.88	1.881	ns	*	ns
MUFA	27.33	25.61	1.816	ns	†	ns
PUFA	3.93	5.88	0.378	***	ns	ns
TOTAL CLA	0.43	1.09	0.130	***	ns	ns
Ratios						
14:1 desaturase index ^c	0.011	0.010	0.0012	†	*	ns
18:1 desaturase index ^c	0.70	0.66	0.013	***	ns	ns
CLA desaturase index ^c	2.03	1.90	0.180	ns	*	ns
n-6/n-3	5.94	1.77	0.286	***	ns	ns

^a Diets supplemented with calcium soaps of palm oil (Control) and extruded linseed (LIN).

^b Effects caused by dietary treatment (D), time on diet (T), and their interaction (D x T).

^c 14:1 desaturase index = C14:1/(C14:0 + C14:1); 18:1 desaturase index = C18:1/ (C18:0 + C18:1); CLA desaturase index = *cis*-9, *trans*-11 C18:2/ (*cis*-9, *trans*-11 C18:2 + *trans*-11 C18:1)

SED: standard error of the difference; AA: araquidonic acid; EPA: eicosanopentanoic acid; DPA: docosapentanoic acid; DHA: docosahexanoic acid

† P < 0.10, * P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001

The proportion of ALA in milk increased 3-fold with the LIN diet. Moreover, extruded linseed supplementation was accompanied by increases ($P < 0.001$) in ClnA and *cis-9, trans-11, trans-15* C18:3, two conjugated isomers of C18:3. The eicosapentaenoic acid (C20:5 n-3, EPA), docosapentaenoic acid (C22:5 n-3, DPA) and docosahexaenoic acid (C22:6 n-3, DHA) contents were extremely low, as commonly occurs in ruminant milk. However, milk from ewes fed the LIN diet had increased ($P < 0.001$) concentrations of these n-3 FA but decreased ($P < 0.001$) concentrations of n-6 PUFA (γ -linolenic acid, C20:3, C20:4 and C22:4). Therefore, the n-6/n-3 ratio was the lowest in milk fat from LIN ewes ($P < 0.001$). Finally, as an indirect measurement of desaturase activity, the 18:1 desaturase index was higher ($P < 0.001$) in Control than in the LIN group.

Lamb performance is shown in Table 4. No differences in suckling lamb carcass yield can be attributed to extruded linseed supplementation ($P > 0.05$), though a trend to increase average daily gain were observed. The FA patterns of suckling lamb meat were similar to those of milk from suckled dams (Tables 5 and 6). C16:0 and *cis-9* C18:1 were the most abundant FA in intramuscular and subcutaneous fats. For both depots Control lambs registered the greatest concentrations of C16:0 ($P < 0.05$). Concerning *cis-9* C18:1, a significant decrease ($P < 0.01$) and a trend to diminish ($P < 0.10$) were observed in intramuscular and subcutaneous fats respectively, in carcasses from LIN suckling lambs. Lambs from the LIN treatment group had the highest levels of VA, RA, ALA, and DHA in both fat depots ($P < 0.05$). However, LIN supplementation resulted in a lower n-6/n-3 ratio than in the Control diet, ($P < 0.001$) this change being less evident in intramuscular (2.42 vs. 5.44) than in subcutaneous (3.01 vs. 8.32) depots.

Table 4. Suckling lamb performance

	Diets ^a		RSD	P value
	Control	LIN		
Birth body weight (kg)	3.91	4.54	0.685	**
Slaughter weight (kg)	10.84	11.30	0.752	ns
Average daily gain (g animal ⁻¹ day ⁻¹)	248	279	47.1	†
Hot carcass weight (kg)	5.99	6.21	0.451	ns
Cold carcass weight (kg)	5.84	6.07	0.446	ns
Chilling losses (%)	2.6	2.3	0.64	ns
Dressing percentage (%)	46.1	46.3	1.90	ns

^aDiets supplemented with calcium soaps of palm oil (Control) and extruded linseed (LIN). RSD: residual standard deviation; † $P < 0.10$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

Table 5. Mean effects of diet supplementation with extruded linseed (LIN) on intramuscular fat fatty acid profile (g/100 g of total fatty acid methyl esters) of suckling lambs.

	Diets ^a		RSD	P value
	Control	LIN		
Saturated (SFA)				
C6:0	0.026	0.031	0.0212	ns
C8:0	0.024	0.019	0.0076	ns
C10:0	0.27	0.25	0.058	ns
C12:0	0.37	0.38	0.094	ns
C13:0	0.053	0.060	0.0152	ns
C14:0 <i>iso</i>	0.28	0.39	0.125	†
C14:0	4.23	4.07	0.664	ns
C15:0 <i>iso</i>	0.087	0.072	0.0165	ns
C15:0 <i>anteiso</i>	0.10	0.12	0.021	†
C15:0	0.26	0.29	0.044	ns
C16:0 <i>iso</i>	0.13	0.13	0.031	ns
C16:0	22.07	19.48	1.996	*
C17:0	0.66	0.56	0.135	ns
C18:0 <i>iso</i>	0.12	0.09	0.032	†
C18:0	12.69	12.57	1.654	ns
C19:0	0.11	0.90	0.033	ns
C20:0	0.13	0.13	0.027	ns
C21:0	0.022	0.024	0.0082	ns
C22:0	0.39	0.45	0.145	ns
C23:0	0.24	0.32	0.091	†
Monounsaturated (MUFA)				
<i>cis</i> -9 C10:1	0.032	0.029	0.0111	ns
<i>cis</i> -9 C14:1	0.18	0.18	0.040	ns
<i>trans</i> -9 C16:1 + C17:0 <i>iso</i>	0.43	0.63	0.100	**
<i>cis</i> -7 C16:1	0.057	0.051	0.0145	ns
<i>cis</i> -9 C16:1 + C17:0 <i>anteiso</i>	2.32	2.04	0.342	ns
<i>cis</i> -13 C16:1	0.080	0.080	0.0230	ns
<i>cis</i> -9 C17:1	0.40	0.33	0.082	ns
<i>trans</i> -6+7+8 C18:1	0.20	0.20	0.040	ns
<i>trans</i> -9 C18:1	0.22	0.26	0.038	†
<i>trans</i> -10 C18:1	0.27	0.32	0.101	ns
<i>trans</i> -11 C18:1	0.57	2.40	0.796	***
<i>trans</i> -12 C18:1	0.29	0.44	0.050	***
<i>cis</i> -9 C18:1	31.95	25.43	3.937	**
<i>trans</i> -15 + <i>cis</i> -11 C18:1	1.35	1.57	0.409	ns
<i>cis</i> -12 C18:1	0.49	1.05	0.233	***
<i>cis</i> -13 C18:1	0.092	0.110	0.0309	ns
<i>trans</i> -16 + <i>cis</i> -14 C18:1	0.23	0.38	0.085	**
<i>cis</i> -15 C18:1	0.10	0.21	0.053	**
<i>cis</i> -16 C18:1	0.14	0.18	0.045	ns
<i>cis</i> -11 C20:1	0.14	0.11	0.024	†

(continued)

Table 5. (Continued)

	Diets ^a		RSD	P value
	Control	LIN		
Non conjugated C18:2				
<i>trans</i> -11, <i>trans</i> -15 C18:2	0.067	0.110	0.0274	**
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15 C18:2	0.076	0.434	0.0788	***
C18:2 n-6	8.41	9.16	1.772	ns
Other non-conjugated C18:2	0.55	0.81	0.149	**
Conjugated C18:2				
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 C18:2	0.36	1.25	0.364	***
<i>trans</i> -9, <i>cis</i> -11 C18:2	0.022	0.023	0.0070	ns
<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 C18:2	0.016	0.015	0.0050	ns
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -13 C18:2	0.033	0.069	0.0200	**
<i>trans</i> -12, <i>trans</i> -14 CLA	0.027	0.041	0.0119	*
<i>trans</i> -11, <i>trans</i> -13 C18:2	0.021	0.046	0.0088	***
Other <i>trans-trans</i> conjugated C18:2	0.051	0.062	0.0105	†
Other PUFA				
C18:3 n-6 (γ -Linolenic acid)	0.11	0.12	0.026	ns
C18:3 n-3 (α -Linolenic acid)	0.43	1.76	0.415	***
C18:3 (<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15)	0.54	0.92	0.235	**
C18:3 (<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11, <i>trans</i> -15)	0.025	0.058	0.0149	**
C20:3 n-6	0.077	0.074	0.0176	ns
C20:4 n-6 AA	4.49	4.41	1.407	ns
C20:5 n-3 EPA	0.44	1.42	0.744	*
C22:4 n-6	0.16	0.18	0.067	ns
C22:5 n-3 DPA	1.02	1.60	0.519	*
C22:6 n-3 DHA	0.62	1.25	0.504	*
SFA	42.24	39.53	2.616	†
MUFA	39.54	36.01	3.476	†
PUFA	13.54	23.80	4.606	*
TOTAL CLA	0.48	1.44	0.367	***
Ratios				
14:1 desaturase index ^b	0.039	0.039	0.0069	ns
18:1 desaturase index ^b	0.74	0.72	0.024	ns
CLA desaturase index ^b	0.39	0.34	0.031	*
n-6/n-3	5.44	2.42	0.745	***

^a Diets supplemented with calcium soaps of palm oil (Control) and extruded linseed (LIN).

^b 14:1 desaturase index = C14:1/(C14:0 + C14:1); 18:1 desaturase index = C18:1/ (C18:0 + C18:1); CLA desaturase index = *cis*-9, *trans*-11 C18:2/ (*cis*-9, *trans*-11 C18:2 + *trans*-11 C18:1)

RSD: residual standard deviation; AA: araquidonic acid; EPA: eicosanopentanoic acid; DPA: docosapentanoic acid; DHA: docosahexanoic acid

† P < 0.10, * P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001

Table 6. Mean effects of diet supplementation with extruded linseed (LIN) on subcutaneous fatty acid profile (g/100 g of total fatty acid methyl esters) of suckling lambs.

	Diets ^a		RSD	P value
	Control	LIN		
Saturated (SFA)				
C5:0	0.047	0.041	0.0233	ns
C6:0	0.042	0.055	0.0274	ns
C7:0	0.037	0.044	0.0224	ns
C8:0	0.069	0.071	0.0276	ns
C10:0	0.88	0.90	0.309	ns
C12:0	1.22	1.26	0.550	ns
C13:0 <i>iso</i>	0.023	0.022	0.0071	ns
C13:0 <i>anteiso</i>	0.014	0.016	0.0047	ns
C13:0	0.08	0.09	0.026	ns
C14:0 <i>iso</i>	0.066	0.068	0.0123	ns
C14:0	9.00	10.29	1.571	*
C15:0 <i>iso</i>	0.16	0.18	0.015	***
C15:0 <i>anteiso</i>	0.18	0.23	0.037	**
C15:0	0.63	0.68	0.128	ns
C16:0 <i>iso</i>	0.19	0.21	0.035	ns
C16:0	31.15	28.00	3.317	*
C17:0	0.92	0.89	0.123	ns
C18:0 <i>iso</i>	0.11	0.10	0.029	ns
C18:0	11.81	12.14	1.817	ns
C19:0	0.078	0.079	0.0153	ns
C20:0	0.11	0.11	0.021	ns
C21:0	0.012	0.013	0.0028	ns
C22:0	0.010	0.009	0.0034	ns
C23:0	0.015	0.022	0.0107	†
C24:0	0.017	0.019	0.0065	ns
Monounsaturated (MUFA)				
<i>cis</i> -9 C10:1	0.058	0.062	0.0245	ns
<i>cis</i> -9 C14:1	0.25	0.31	0.065	*
<i>cis</i> -9 C15:1	0.048	0.056	0.0120	†
<i>trans</i> -9 C16:1+ C17:0 <i>iso</i>	0.35	0.46	0.044	***
<i>cis</i> -7 C16:1	0.38	0.37	0.044	ns
<i>cis</i> -9 C16:1+ C17:0 <i>anteiso</i>	2.40	2.43	0.405	ns
<i>cis</i> -9 C17:1	0.46	0.43	0.107	ns
<i>trans</i> -4 C18:1	0.015	0.016	0.0043	ns
<i>trans</i> -5 C18:1	0.012	0.038	0.0103	***
<i>trans</i> 6+7+8 C18:1	0.29	0.33	0.060	*
<i>trans</i> -9 C18:1	0.30	0.38	0.046	***
<i>trans</i> -10 C18:1	0.37	0.47	0.164	ns
<i>trans</i> -11 C18:1	0.79	2.83	1.016	***
<i>trans</i> -12 C18:1	0.20	0.39	0.1050	***
<i>cis</i> -9 C18:1	32.74	29.24	4.773	†

(continued)

Table 6. (Continued)

	Diets ^a		RSD	P value
	Control	LIN		
Monounsaturated (MUFA)				
<i>trans</i> -15+ <i>cis</i> -11 C18:1	0.58	0.65	0.091	***
<i>cis</i> -12 C18:1	0.23	0.49	0.105	***
<i>cis</i> -13 C18:1	0.057	0.085	0.0127	***
<i>trans</i> -16 + <i>cis</i> -14 C18:1	0.27	0.49	0.099	***
<i>cis</i> -15 C18:1	0.066	0.251	0.0447	***
<i>cis</i> -11 C20:1	0.077	0.071	0.0251	ns
Non conjugated C18:2				
<i>trans</i> -11, <i>trans</i> -15 C18:2	0.007	0.068	0.0202	***
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15 C18:2	0.035	0.639	0.1924	***
C18:2 n-6	1.48	1.10	0.304	**
Other non-conjugated C18:2	0.50	0.95	0.164	***
Conjugated C18:2				
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 C18:2	0.18	0.41	0.142	***
<i>trans</i> -9, <i>cis</i> -11 C18:2	0.008	0.007	0.0017	ns
<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 C18:2	0.004	0.004	0.0012	ns
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -13 C18:2	0.005	0.016	0.0044	***
<i>trans</i> -12, <i>trans</i> -14 C18:2	0.009	0.028	0.0071	***
<i>trans</i> -11, <i>trans</i> -13 C18:2	0.005	0.013	0.0042	***
Other <i>trans-trans</i> conjugated C18:2	0.040	0.020	0.0120	***
Other PUFA				
C18:3 n-6 (γ -linolenic acid)	0.017	0.016	0.0050	ns
C18:3 n-3 (α -linolenic acid)	0.13	0.32	0.095	***
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15 C18:3	0.016	0.050	0.0165	***
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11, <i>trans</i> -15 C18:3	0.003	0.019	0.0058	***
C20:3 n-6	0.007	0.006	0.0029	ns
C20:4 n-6 AA	0.035	0.034	0.0241	ns
C20:5 n-3 EPA	0.019	0.028	0.0260	ns
C22:4 n-6	0.014	0.014	0.0059	ns
C22:5 n-3 DPA	0.027	0.039	0.0246	ns
C22:6 n-3 DHA	0.015	0.022	0.0075	*
SFA	56.87	55.55	4.177	ns
MUFA	37.11	36.94	4.138	ns
PUFA	2.55	3.80	0.567	***
TOTAL CLA	0.24	0.50	0.148	***
Ratios				
14:1 desaturase index ^b	0.027	0.029	0.0049	ns
18:1 desaturase index ^b	0.75	0.75	0.025	ns
CLA desaturase index ^b	0.18	0.15	0.079	ns
n-6/n-3	8.32	3.01	0.770	***

^a Diets supplemented with calcium soaps of palm oil (Control) and extruded linseed (LIN).

^b 14:1 desaturase index = C14:1/(C14:0 + C14:1); desaturase index = C18:1/ (C18:0 + C18:1); CLA desaturase index = *cis*-9, *trans*-11 C18:2/ (*cis*-9, *trans*-11 C18:2 + *trans*-11 C18:1)

RSD: residual standard deviation; AA: araquidonic acid; EPA: eicosanopentanoic acid; DPA: docosapentanoic acid; DHA: docosahexanoic acid; † P < 0.10, * P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001

Overall, intramuscular fat was richer in PUFA than subcutaneous fat, made up of mainly C20:4 n-6 and linoleic acid as well as other n-6 series FA (Tables 5 and 6). It is remarkable that, in contrast with milk fat (Table 3), there were no differences in levels of linoleic acid and its n-6 PUFA metabolites in intramuscular fat in either diet (Table 5). Furthermore, LIN intramuscular fat displayed the highest concentrations of ALA, RA, EPA, DPA and DHA. 14:1 and CLA desaturase indices were higher in intramuscular than in subcutaneous fat with only one significant reduction ($P < 0.05$) detected for the CLA desaturase index in intramuscular fat of the LIN treatment (Table 5 and 6).

6. Discussion

6.1. Milk yield and composition

Milk, fat and protein yields, as well as protein percentages were not influenced by the addition of extruded linseed. A similar trend was reported with linseed oil in sheep (Bodas et al., 2010, Manso et al., 2011). In contrast, Gómez-Cortés et al. (2009b) in ewe milk and Hurtaud et al. (2010) in cow milk observed an increase in milk production and milk fat yield when rations were supplemented with extruded linseed. These increases could be attributed to the greater energy supply of their supplemented rations compared with the unsupplemented ones. In addition, Hurtaud et al. (2010) suggested that the changes in milk fat yield with linseed supplementation appear to be fairly random and relatively uncontrollable. As the diets assayed in the present experiment were iso-energetic and iso-nitrogenous, and the amount of feed offered to the animals was the same, no changes in milk yield and milk composition should be expected.

6.2. Milk fatty acid composition

The inclusion of extruded linseed in the diet produced significant increases in most of the C18 FA contents, at the expense of a decrease in C16:0 concentration (Table 3). This decrease had to be attributed to the low amount of palmitic acid in extruded linseed compared to its high content in calcium soap of palm oil (Table 1). Furthermore, because C16:0 is partially derived (about 50%) from *de novo* synthesis in the mammary gland, this decrement could also, in part, be due to the effect of long-chain FA, which can alter the lipogenic gene networks in mammary epithelial cells. In fact, dietary

PUFA are bio-hydrogenated in the rumen to form *trans*-FA, some of which are recognised as potent inhibitors of lipogenesis in the udder (Kadegowda et al., 2009).

The presence of higher levels of C18:0 in milk fat in the LIN diet is the result of the complete biohydrogenation of the dietary C18 PUFA, mainly ALA. Stearic acid is partly converted into *cis*-9 C18:1 in the mammary gland via Δ^9 -desaturase (Bichi et al., 2012), so it should contribute to an increase in the oleic content in ewe milk fat. The greatest mammary Δ^9 -desaturase activity observed in the Control treatment would justify the lowest concentration of oleic acid in LIN milk fat.

The 3-fold increase in ALA levels with the LIN diet corresponded to molecules of this n-3 PUFA which escaped biohydrogenation in the dam rumen. In addition, increases in the contents of *cis*-9, *trans*-11, *cis*-15 C18:3, *trans*-11, *cis*-15 C18:2 and *cis*-15 C18:1, as well as *cis*-9, *trans*-11, *trans*-15 C18:3, *trans*-11, *trans*-15 C18:2 and *trans*-15 C18:1, intermediates of different rumen biohydrogenation pathways of ALA (Destailats et al., 2005; Gómez-Cortés et al., 2009c), confirm that feeding linseed or linseed oil generates an accumulation in the rumen of these FA, that partly escape being transferred to milk (Gómez-Cortés et al., 2009b; Bodas et al., 2010; Mele et al., 2011).

The levels of *trans* C18:1 isomers were significantly increased by extruded linseed supplementation, but to an even greater extent for VA. The observed effect of extruded linseed supplementation on milk VA, already noted by previous authors (Gómez-Cortés et al., 2009b, Mele et al., 2011), is also consistent with the biohydrogenation pathways for ALA in the rumen, which is first isomerized to ClnA and then sequentially reduced to VA (Destailats et al., 2005). Strong correlations between this group of FA have been found in this study ($r = 0.95$, $P < 0.001$). In contrast to VA, *trans*-10 C18:1 content remained below 1% of total FAME in ewe milk fat fed with the linseed supplement. Previous reports have associated high contents of *trans*-10 C18:1 (>1% of total FAME) in dairy fat with alterations in rumen environment, most likely due to diets with a low dietary forage:concentrate ratio or highly supplemented with PUFA (Palmquist et al., 2005).

Milk fat concentration of RA increased 2.4 fold with extruded linseed supplementation. The extent of this increase, using extruded linseed, was lower than that observed in ewes by Manso et al. (2011) when free linseed oil was used, but higher

than that observed in ewes by Zhang et al. (2006) using whole raw linseed. The strong correlation between VA and RA calculated in the current research ($r = 0.97$, $P < 0.001$) confirms the substrate:product relationship for Δ^9 -desaturase. RA in ewe milk fat is not only formed by direct isomerization of linoleic acid in the rumen, but mainly originates from endogenous synthesis from VA via Δ^9 -desaturase in the mammary gland (Bichi et al., 2012). The ALA supplied by the LIN diet is a direct precursor of the VA produced in the rumen and then used for endogenous synthesis of RA in the mammary gland. The physical form of the linseed supplement could also contribute to an increase in RA levels. The process of extrusion (physical breakdown and heat-processing of linseed) may help to enhance the availability of ALA to rumen microbiota, and thus increase the amount of VA in the rumen, that would subsequently be converted to RA in the mammary gland.

According to previous research done with ewes milk (Gómez-Cortés et al., 2009b; Bodas et al., 2010) the levels of *trans*-10, *cis*-12 and *trans*-9, *cis*-11 C18:2 were negligible when a ewe's diet was supplemented with high amounts of ALA. However, significant increases ($P < 0.05$) in other CLA isomers (*trans*-11 *cis*-13, *trans*-12 *trans*-14, *trans*-11 *trans*-13) observed in the LIN diet are in agreement with previously reported studies of ewes fed on pasture (Gómez-Cortés et al., 2009a) or with diets rich in extruded linseed (Gómez-Cortés et al., 2009b; Mele et al., 2011).

The increased EPA, DPA and DHA levels observed in LIN treated milk can be attributed to ALA molecules that avoided rumen biohydrogenation and are transferred to the mammary gland. ALA can be metabolized by desaturation and elongation enzymes to form a series of highly unsaturated n-3 long-chain PUFA, the major products of this pathway being EPA, DPA and DHA (Simopoulos, 2008; Kaur et al., 2011). The significant correlations between ALA vs. EPA ($r = 0.78$, $P < 0.001$), EPA vs. DPA ($r = 0.76$, $P < 0.001$) and DPA vs. DHA ($r = 0.81$, $P < 0.001$) support this statement. The noticeable decrease of the n-6/n-3 ratio in milk fat when ewes were supplemented with extruded linseed would be positive from a nutritional point of view (Simopoulos, 2008).

6.3. Suckling lamb performance

No changes in lamb performance were observed as a result of adding extruded linseed to their dam's diet (Table 4). Awawdeh et al. (2009) and Manso et al. (2011) have reported that changes in suckling lamb performance are mainly related to differences in milk yield, milk fat and protein levels. Because the lambs were fed exclusively on maternal milk, and the milk yield did not limit lamb growth, a lack of difference in milk yield and composition would explain the lack of effect on lamb performance.

6.4. Intramuscular and subcutaneous fatty acid composition

Regardless of fat deposit, the milk FA profile of the suckled dams exerted significant effects on the meat FA content. This relationship has already been described in suckling lambs (Borys et al., 2005; Scerra et al., 2007; Osorio et al., 2007; Manso et al., 2011). In these young pre-ruminants, the rumen is not functional yet, so there is no ruminal biohydrogenation of the milk FA before they are absorbed by the intestine. Therefore, changes in dam milk FA composition due to diet can induce significant differences in the FA profile of meat and fat depots of their suckling lambs. On the other hand, subcutaneous and intramuscular fat depots presented differences in their FA composition. Overall, intramuscular fat had a greater percentage of PUFA together with a lower proportion of SFA (Tables 5 and 6). Suckling lambs preferentially incorporate essential FA (linoleic and ALA) into muscle rather than storing them in adipose tissue because of their important metabolic roles. Additionally, intramuscular fat was more abundant in CLA and had a lower n-6/n-3 ratio therefore exhibiting a better FA profile from a nutritional point of view. The major presence of PUFA in intramuscular fat had previously been observed for suckling lambs (Cañeque et al., 2005; Osorio et al., 2007; Manso et al., 2011) and is based on a higher phospholipid proportion of these depots (Juárez et al., 2010). As phospholipids are constituents of cell membranes their composition is less influenced by diet, because large changes in the FA profile of these membranes would alter their properties and other physiological functions.

The difference in palmitic acid content between suckling lamb carcasses from the Control and LIN groups is explained by the different levels of this FA in milk consumed by lambs. Furthermore, it has also been estimated that during the suckling lambs' first

weeks of life, FA absorbed from the intestine contribute to the majority of the total deposited FA while *de novo* synthesized FA will supply less than 20% (Osorio et al., 2007). The higher levels of oleic acid in Control carcass fat depots could be attributed to milk intake as the 18:1 desaturase indexes in intramuscular and subcutaneous fats were not significantly modified (Tables 5 and 6).

As a result of the VA and RA contents in the milk consumed by the suckling lambs, the fat deposits (intramuscular and subcutaneous) obtained from the LIN suckling lambs presented higher levels of both FA. With respect to this, Manso et al. (2011) in their study of linseed oil supplementation for lactating sheep also observed the same pattern. Moreover, a significant positive correlation was observed between RA and VA levels in milk and these intramuscular ($r = 0.83$, $P < 0.001$) and subcutaneous fats ($r = 0.75$, $P < 0.001$), albeit less strong than in milk ($r = 0.97$, $P < 0.001$). This was probably due to the dual origin of RA in animal tissues, which is derived partly from the diet and partly from endogenous synthesis from the VA. Although feeding conditions have repeatedly proved to exert a major effect on RA content in animal fat (Schmid et al., 2006), in pre-ruminants such as suckling lambs, dietary RA would not be the only source of accretion of RA in tissues. Endogenous synthesis of RA from dietary VA via Δ^9 -desaturase could also be considered as partially responsible for the RA content in animal tissues (Raes et al., 2004).

The fact that RA is less abundant in subcutaneous depot can be explained by the greater CLA desaturase activity in intramuscular tissue in Control and LIN samples (Tables 5 and 6). Besides, the higher correlation coefficient between RA and VA in intramuscular ($r = 0.97$, $P < 0.001$) than in subcutaneous fat ($r = 0.73$, $P < 0.01$) would also support greater RA endogenous synthesis in intramuscular tissue. Although the CLA desaturase index was significantly reduced with linseed supplementation, its levels were always greater in intramuscular fat than in subcutaneous fat. These results coincide with those of Palmquist et al. (2004) who reported a higher endogenous synthesis of RA from VA in muscle than in lamb adipose tissue. In contrast to RA, intestinal absorption of the *trans*-10 *cis*-12 C18:2 is the only pathway involved in the presence of this CLA isomer in ruminant products, as animal tissues do not possess the desaturase enzyme capable of inserting a C12-double bond into the *trans*-10 C18:1 molecule. This fact would account for the lack of difference in levels of this CLA isomer in fat depots.

The presence of ALA in muscle and adipose tissues in suckling lambs strongly depends on the milk ALA content ($r = 0.93$, $P < 0.001$ and $r = 0.82$, $P < 0.001$, for muscle and adipose tissue, respectively) which, in turn, is related to the dietary composition of their dams. Extruded linseed supplementation increased the ALA proportion 4.1 and 2.4-fold in intramuscular and subcutaneous depots respectively. Scerra et al. (2007) reported a 1.8-fold increase in ALA in intramuscular fat of suckling lambs raised on pasture, whereas lambs raised with dams fed with linseed oil (3% in DM) increased the proportion of ALA 2.0 and 1.9-fold in intramuscular and subcutaneous depots respectively (Manso et al., 2011). The strong correlation between ClnA and ALA in both depots ($r = 0.89$, $P < 0.001$ and $r = 0.78$, $P < 0.001$, for intramuscular and subcutaneous depots, respectively) again emphasizes the considerable influence that dam milk composition has on the FA profile of suckling lambs. Furthermore, other C18:2 and C18:3 PUFA, such as *trans*-11 *cis*-15 C18:2, *trans*-11 *trans*-15 C18:2, and *cis*-9 *trans*-11 *trans*-15 C18:3, derived from ALA metabolism in ewes (Gómez-Cortés et al. 2009c; Bichi et al., 2012), also increased significantly in the meat fat of LIN suckling lambs. This pattern too, is consistent with the efficient incorporation of minor CLA isomers such as *trans*-11 *trans*-13, *trans*-11 *cis*-13 or *trans*-12 *trans*-14 in intramuscular and subcutaneous fat (Tables 5 and 6), generally linked to milk FA composition from ewes fed enriched ALA diets (Gómez-Cortés et al., 2009a, 2009b).

EPA, DPA and DHA increased in fat deposits of suckling lambs from ewes supplemented with extruded linseed, mainly in the intramuscular tissue. It is well established that diets rich in ALA result in an increased level of EPA in the meat by desaturation and elongation of ALA in the tissues (Raes et al., 2004). Evidence also suggests that ALA would be the preferred substrate for the Δ^5 and Δ^6 -desaturase enzymes (Wood et al., 2008). There is less consensus with regard to the evolution of the DHA content. Lanza et al. (2006) doubled the DHA content in *Longissimus dorsi* muscle when lambs were fed ALA high content milk. However, other studies in suckling lambs (Scerra et al., 2007; Manso et al., 2011) or kids (Nudda et al., 2008) did not report any remarkable increases in this n-3 PUFA when dam milk was ALA enriched.

In spite of being more abundant in Control than in LIN milk, linoleic acid contents were found to be similar in carcass intramuscular deposits from LIN and Control treatments (Table 5). These results indicate that diet influenced the muscle content of ALA more than that of linoleic acid, in accordance with previous observations in lamb (Palmquist et al., 2004) and kid (Nudda et al., 2008) meat. This difference was also observed for other n-6 PUFA such as γ -linolenic acid, C20:3, C20:4 and C22:4. These FA were significantly higher in Control than in LIN milk fat (Table 3) but were not modified by extruded linseed supplementation (Tables 5). A similar, or even more pronounced pattern was reported by Lanza et al. (2006) and Osorio et al. (2007). All this information has to be interpreted in the light of the competition between n-6 and n-3 PUFA for both, incorporation into the intramuscular fat and enzymatic conversion: elongation and desaturation. Although potentially, these enzymes have a preference for the n-3 PUFA (Raes et al., 2004), linoleic acid incorporation into adipose tissue and muscle in relation to the amount in the diet is greater than for other FA (Wood et al., 2008). Linoleic acid is deposited in muscle phospholipids at a very high level where it and its long-chain products compete well for insertion into phospholipid molecules. On the other hand, linoleic acid is a precursor of C20:4 n-6 and other n-6 PUFA in the mammalian organism, and thus the amount of these FA in carcass fat must be reciprocally related. This would also be applicable for ALA and the longer n-3 FA. The significant correlations found between linoleic, C20:3 n-6, C20:4 n-6 and C22:4 n-6 in intramuscular ($r = 0.63$, $P < 0.01$; $r = 0.79$, $P < 0.001$ and $r = 0.71$, $P < 0.01$) and subcutaneous fat ($r = 0.64$, $P < 0.01$; $r = 0.79$, $P < 0.001$ and $r = 0.65$, $P < 0.01$) would support this statement.

In any case, in accordance with the higher levels of n-3 PUFA in lamb meat from ewes fed extruded linseed, the n-6/n-3 ratio was significantly lower in this group in intramuscular and subcutaneous fat. These values (2.42 intramuscular and 3.01 in subcutaneous) of LIN suckling lambs would be in accordance with nutritionist recommendations, which are for a ratio of n-6/n-3 PUFA of less than 5 (Raes et al., 2004; Simopoulos, 2008).

7. Conclusions

The addition of extruded linseed to the diet of lactating ewes did not affect milk, yield and lamb performance. However, this lipid supplement did modify milk FA composition considerably and subsequently suckling lamb meat fat composition. Carcasses of animals from the linseed-fed diet group contained significantly higher levels of RA, VA, ALA, EPA, DPA and DHA and a lower n-6/n-3 ratio, mainly in intramuscular depots. Therefore, from a dietetic point of view, meat from suckling lambs whose dams have been supplemented with the most commonly used fat in sheep feeding (calcium soap of palm oil) exhibited a less favourable lipid profile in meat than suckling lambs reared by dams fed a linseed supplemented diet. Results from this experiment therefore support the idea that incorporating extruded linseed in the feeding system of lactating ewes would produce lamb meat with a healthier lipid profile.

8. References

- AOAC, 2003. Official Method of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 17th Ed. AOAC International, Gaithersburg, USA.
- Awawdeh, M.S., Obeidat, B.S., Kridli, R.T., 2009. Yellow grease as an alternative energy source for nursing Awassi ewes and their suckling lambs. *Animal Feed Science and Technology* 152, 165-174.
- Bauman, D.E., Lock, A.L., Corl, B.A., Ip, C., Salter, A.M., Parodi, P.W., 2006. Milk fatty acids and human health: Potential role of conjugated linoleic acid and *trans* fatty acids. In: *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism and Impact of Nutrition on Gene Expression, Immunology and Stress* (K. Sjerssen, T. Hvelplund and M. O. Nielsen, eds.). pp. 523-555. Wageningen Academic Publishers, Wageningen (Netherlands).
- Bichi, E., Toral, P.G., Hervás, G., Frutos, P., Gómez-Cortés, P., Juárez, M., De la Fuente, M.A., 2012. Inhibition of Δ^9 -desaturase activity with sterculic acid: effect on the endogenous synthesis of *cis*-9 18:1 and *cis*-9 *trans*-11 18:2 in dairy sheep. *Journal of Dairy Science* 95, 5242-5252.
- Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37, 911-917.
- Bodas, R., Manso, T., Mantecón, 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.
- Borys, B., Borys, A., Pajak, J.J., 2005. The fatty acid profile of meat of suckling lambs from ewes fed rapeseed and linseed. *Journal of Animal Feed Science* 14, 223-226.
- Cañeque, V., Díaz, M.T., Alvarez, I., Lauzurica, S., Pérez, C., De la Fuente, J., 2005. The influences of carcass weight and depot on the fatty acid composition of fats suckling Manchego lambs. *Meat Science* 70, 373-379.
- Destailats, F., Trottier, J.P., Galvez, J.M.G., Angers, P., 2005. Analysis of α -linolenic acid biohydrogenation intermediates in milk fat with emphasis on conjugated linoleic acid. *Journal of Dairy Science* 88, 3231-3239.
- Doreau, M., Aurousseau, E., Martin, C., 2009a. Effects of linseed lipids fed as rolled seeds, extruded seeds or oil on organic matter and crude protein digestion in cows. *Animal Feed Science and Technology* 150, 187-196.

- Doreau, M., Laverroux, S., Normand, J., Chesneau, G., Glasser, F., 2009b. 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.
- FEDNA, 2003. Normas FEDNA para la formulación de piensos compuestos. Fundación española para el desarrollo de la nutrición animal, Madrid (Spain).
- Field, C.J., Blewett, H.H., Proctor, S., Vine, D., 2009. Human health benefits of vaccenic acid. *Applied Physiology Nutrition and Metabolism* 34, 979-991.
- 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., Tyburczy, C., Brenna, J.T., Juárez, M., De la Fuente, M.A., 2009c. Characterization by GC-MS and CACI-MS/MS of *cis-9 trans-11 trans-15* C18:3 in milk fat. *Journal of Lipid Research* 50, 2412-2420.
- Hurtaud, C., Faucon, F., Couvreur, S., Peyraud, J.L., 2010. Linear relationship between increasing amounts of extruded linseed in dairy cow diet and milk fatty acid composition and butter properties. *Journal of Dairy Science* 93 1429-1443.
- International Dairy Federation, 2000. International IDF standard 141C:2000. Determination of milk fat, protein and lactose content. Guidance on the operation of mid-infrared instruments. International Dairy Federation, Brussels (Belgium).
- ISO-IDF, 2002. Milk fat—Preparation of fatty acid methyl esters. International Standard ISO 15884-IDF 182: 2002. International Dairy Federation, Brussels (Belgium).
- Juárez, M., Horcada, A., Alcalde, M.J., Aldai, N., Polvillo, O., Valera, M., Molina, A., 2010. Fatty acid composition of lamb fat depots as an origin discriminator. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8, 976-980.
- Kadegowda, A.K.G., Bionaz, M., Piperova, L., Erdman, R.A., Looor, J.J., 2009. Peroxisome proliferators-activated receptor-c activation and long-chain fatty acids alter lipogenic networks in bovine mammary epithelial cells to various extents. *Journal of Dairy Science* 92, 4276–4289.
- Kaur, G., Cameron-Smith, D., Garg, M., Sinclair, A.J., 2011. Docosapentaenoic acid (22:5n-3): A review of its biological effects. *Progress in Lipid Research* 50, 28-34.
- Lanza, M., Bella, M., Priolo, A., Barbagallo, D., Galofaro, V., Landi, C., Pennisi, P. 2006. Lamb meat quality as affected by a natural or artificial milk feeding regime. *Meat Science* 73, 313-318.
- Lock, A.L., Kraft, J., Rice, B.H., Bauman, D.E., 2009. Biosynthesis and biological activity of rumenic acid: a natural CLA isomer. In: *Trans Fatty Acids in Human Nutrition* (F. Destailats, J.L. Sébédio, F. Dionisi and J.M. Chardigny, eds.). pp. 195-230. The Oily Press, Brigwater (United Kingdom).
- Luna, P., Juárez, M., De la Fuente, M.A., 2005. Validation of a rapid milk fat separation method to determine the fatty acid profile by gas chromatography. *Journal of Dairy Science* 88, 3377-3381.
- Luna, P., Bach, A., Juárez, M., De la Fuente, M.A., 2008. Effect of a diet enriched in whole linseed and sunflower oil on goat milk fatty acid composition and conjugated linoleic acid isomer profile. *Journal of Dairy Science* 91, 20–28.
- Manso, T., Bodas, R., Vieira, C., Mantecón, A.R., Castro, T., 2011. Feeding vegetable oils to lactating ewes modifies the fatty acid profile of suckling lambs. *Animal* 5, 1659-1667.
- Mele, M., Contarini, G., Cercaci, L., Serra, A., Buccioni, A., Povolò, M., Conte, G., Funaro, A., Banni, S., Lercker, G., Secchiari, P., 2011. Enrichment of Pecorino cheese with conjugated linoleic acid by feeding dairy ewes with extruded linseed: Effect on fatty acid and triglycerides composition and on oxidative stability. *International Dairy Journal* 21, 365-372.
- Mughetti, L., Acuti, G., Antonini, C., De Vincenzi, S., Olivieri, O., Marinucci, M.T., 2007. Effects of feeding raw or extruded linseed on the ruminal ecosystem of sheep. *Italian Journal of Animal Science* 6, 327-329.
- Nudda, A., Palmquist, D.L., Battacòne, G., Fancellu, S., Rassa, S.P.G., Pulina, G., 2008. Relationships between the contents of vaccenic acid, CLA and n – 3 fatty acids of goat milk and the muscle of their suckling kids. *Livestock Science* 118, 195-203.

- Osorio, M.T., Zumalacárregui, J.M., Figueira, A., Mateo, J., 2007. Fatty acid composition in subcutaneous, intermuscular and intramuscular fat deposits of suckling lamb meat: Effect of milk source. *Small Ruminant Research* 73, 127-134.
- Palmquist, D.L., Jenkins, T.C., 1980. Fat in lactation rations: Review. *Journal of Dairy Scienc*, 63, 1-14.
- Palmquist, D.L., St-Pierre, N., McClure, K.E., 2004. Tissue fatty acid profiles can be used to quantify endogenous rumenic acid synthesis in lambs. *Journal of Nutrition* 134, 2407-414.
- Palmquist, D.L., Lock, A.L., Shingfield, K.J., Bauman, D.E., 2005. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. *Advances in Food and Nutrition Research* 50, 179-217.
- Raes, K., De Smet, S., Demeyer, D., 2004. Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Animal Feed Science and Technology* 113, 199-221.
- Scerra, M., Caparra, P., Foti, F., Galofaro, V., Sinatra, M.C., Scerra, V., 2007. Influence of ewe feeding systems on fatty acid composition of suckling lambs. *Meat Science* 76, 390-394.
- Schmid, A., Collomb, M., Sieber, R., Bee, G., 2006. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: a review. *Meat Science* 73, 29-41.
- Simopoulos, A.P., 2008. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine*, 233 674-688.
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I., Wittington, F.M., 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science* 78, 343-358.
- Zhang, R.H., Mustafa, A.F., Zhao, X., 2006. Effects of feeding oilseed rich in linolenic fatty acids to lactating ewes on cheese yield and on fatty acid composition of milk and cheese. *Animal Feed Science and Technology* 127, 220-233.

VI. Prueba 3

EFFECTS OF LINSEED OIL AND NATURAL OR SYNTHETIC VITAMIN E SUPPLEMENTATION OF LACTATING EWE DIETS ON ANIMAL PERFORMANCE, FATTY ACID PROFILES AND LIPID OXIDATION OF SUCKLING LAMB MEAT.

Efecto de la suplementación de la dieta de las madres con aceite de linaza y vitamina E, natural o sintética, sobre los rendimientos productivos, el perfil de ácidos grasos y la oxidación de la carne de cordero lechal.

1. Resumen

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la inclusión en la dieta de ovejas en inicio de lactación de aceite de linaza y vitamina E, sintética o natural, sobre la composición de la grasa de la leche, la grasa intramuscular de los corderos lechales y el color y la oxidación lipídica de la carne de cordero. Cuarenta y ocho ovejas con sus respectivos corderos recién nacidos fueron divididos y asignados a uno de las cuatro dietas experimentales. Las dietas experimentales fueron: Control (Control, sin grasa añadida), LO (con un 3% de aceite de linaza), LO-Syn E (LO más 400 mg/kg TMR de vitamina E sintética) y LO-Nat E (LO más 400 mg/kg TMR de vitamina E natural). Todos los corderos se alimentaron exclusivamente de leche materna y fueron sacrificados cuando alcanzaron los 12 kg de peso vivo y se tomaron muestras del músculo *Longissimus dorsi*. La producción de leche y el porcentaje de proteína no fueron afectados por las dietas con aceite de linaza comparadas con la dieta Control ($P > 0,05$), mientras que el porcentaje de grasa de la leche aumentó en las ovejas alimentadas con aceite de linaza y vitamina E ($P < 0,05$). La leche de los tratamientos LO, LO-Syn E y LO-Nat E presentó un porcentaje menor de ácidos grasos (FA) saturados y un mayor porcentaje de FA monoinsaturados y poliinsaturados (PUFA) que las ovejas alimentadas con la dieta Control. La suplementación con aceite de linaza, aumentó el contenido en *trans-11* C18:1 (VA; $P < 0,001$), *trans-10* C18:1 ($P < 0,05$), *cis-9, trans-11* C18:2 (RA; $P < 0,01$), *trans-10, cis-12* C18:2 ($P < 0,05$) y C18:3 n-3 ($P < 0,001$) en la grasa de la leche comparado con el tratamiento Control. La suplementación de la dieta LO con vitamina E no influyó significativamente ($P > 0,05$) en la mayoría de los ácidos

grasos comparado con la dieta LO. El tratamiento LO-Syn E mostró mayores porcentajes de RA ($P < 0,01$) y *trans-10, cis-12* C18:2 ($P < 0,05$) que los tratamientos LO-Nat E y Control. El perfil de FA de la carne de los corderos lechales fue similar al de la leche que consumieron, sin afectar a los rendimientos productivos. El contenido en *trans-10* C18:1 ($P < 0,05$), VA ($P < 0,001$), RA ($P < 0,001$), *trans-10, cis-12* C18:2 ($P < 0,001$) y C18:3 n-3 ($P < 0,001$) fue mayor en la grasa intramuscular de los corderos de los tratamientos con aceite de linaza, sin embargo, no hubo diferencias significativas ($P > 0,05$) en estos FA debidas ni a la suplementación con vitamina E ni al tipo de vitamina E suplementada (sintética o natural). Debido al bajo contenido de grasa en la carne, los tratamientos suplementados con vitamina E mostraron mayores valores de EPA ($P < 0,05$), DPA ($P < 0,10$) y DHA ($P < 0,10$) y los niveles fueron mayores ($P < 0,05$) cuando el tipo de vitamina E suplementada fue sintética, probablemente debido a la mayor proporción de fosfolípidos. La suplementación de la dieta de las ovejas con vitamina E aumentó el nivel de vitamina E en la leche ($P < 0,001$) y en la carne ($P < 0,05$). Los tratamientos con vitamina E (LO-Syn E and LO-Nat E) mantuvieron el nivel de oxidación constante y por debajo del límite de aceptabilidad de la carne de cordero. Como conclusión, el uso de aceite de linaza en la ración de ovejas al inicio de lactación aumento el contenido en ácidos grasos saludables como VA, RA y ALA en la leche y en la carne, y el uso de vitamina E mostró un efecto limitado sobre el perfil de FA de la carne y de la leche, pero un efecto claro sobre el color y la oxidación de la carne de cordero lechal.

Palabras claves: cordero lechal, ácido graso, aceite linaza, vitamina E

2. Abstract

The objective of this study was to evaluate the effects of dietary linseed oil and vitamin E, synthetic or natural, on the lipid composition of ewe milk, intramuscular suckling lamb fat and colour and lipid oxidation of lamb meat. Forty-eight Churra ewes with their new-born lambs were separated into four groups and each group assigned to one of the four dietary treatments. The dietary treatments were: Control (Control, without added fat), LO (with 3% linseed oil), LO-Syn E (LO plus 400 mg/kg TMR of synthetic vitamin E) and LO-Nat E (LO plus 400 mg/kg TMR of natural vitamin E). All lambs were reared exclusively on milk, slaughtered when they reached 12 kg live

weight and samples from the *Longissimus dorsi* muscle were taken. Milk yield and protein percentage were not affected by diets containing only linseed oil compared to Control ($P > 0.05$), whereas the milk fat percentages increased in dairy ewes fed linseed oil plus vitamin E ($P < 0.05$). Milk from LO, LO-Syn E and LO-Nat E treatments had lower percentages of saturated fatty acids (FA) but higher percentages of monounsaturated FA and polyunsaturated FA (PUFA) than ewes fed the Control diet. Linseed oil supplementation caused an increase in *trans-11* C18:1 (VA; $P < 0.001$), *trans-10* C18:1 ($P < 0.05$), *cis-9*, *trans-11* C18:2 (RA; $P < 0.01$), *trans-10*, *cis-12* C18:2 ($P < 0.05$) and C18:3 n-3 ($P < 0.001$) in milk fat compared to the Control. The addition of vitamin E to the LO diets did not influence significantly ($P > 0.05$) the majority of milk fatty acids compared with the LO diet alone. The LO-Syn E treatment resulted in higher percentages of RA ($P < 0.01$) and *trans-10*, *cis-12* C18:2 ($P < 0.05$) than the LO-Nat E and Control treatments. The FA patterns of suckling lamb meat were similar to milk from their respective dams, without affecting lamb performance. *Trans-10* C18:1 ($P < 0.05$), VA ($P < 0.001$), RA ($P < 0.001$), *trans-10*, *cis-12* C18:2 ($P < 0.001$) and C18:3 n-3 ($P < 0.001$) levels were higher in intramuscular lamb fat from treatments with linseed oil, however, no statistically significant differences ($P > 0.05$) were observed in these FA due to vitamin E supplementation or the type of supplemented vitamin E (synthetic vs. natural). Because of the lower fat content of meat, treatments supplemented with vitamin E showed higher levels of EPA ($P < 0.05$), DPA ($P < 0.10$) and DHA ($P < 0.10$), and these levels were even higher ($P < 0.05$) when the supplemented vitamin was synthetically produced, probably due to the greater proportion of phospholipids. Supplementing ewe diets with vitamin E (LO vs. LO-Syn E and LO-Nat E) increased the vitamin E content in both milk ($P < 0.001$) and meat ($P < 0.05$). Treatments with vitamin E (LO-Syn E and LO-Nat E) kept the value of the lipid oxidation constant below the acceptability threshold for lamb meat. In conclusion, the use of linseed oil in lactating ewe diets increased the content of healthy FA, like VA, RA and ALA in milk and meat, and even though vitamin E supplementation only had a limited effect on milk and meat fatty acid profiles, it clearly affected colour and lipid oxidation of suckling lamb meat.

Keywords: suckling lamb, fatty acid, linseed oil, vitamin E.

3. Introduction

In recent years, there has been a growing interest in identifying strategies to enhance the concentration of healthy fatty acids in ruminant foods (meat and milk), such as conjugated linoleic acid (CLA) and n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA). Till now the dietary inclusion of PUFA-rich lipids has been the most commonly investigated nutritional strategy (Raes et al., 2004; Wood et al., 2008).

Current research has been focused on improving the fatty acid profile of suckling lamb meat, owing to its importance as a traditionally consumed food in European Mediterranean regions. Suckling lambs, covered by a protected geographical indication (PGI), are reared with their dams, fed exclusively on maternal milk and slaughtered after a suckling period of 30-35 days. As suckling lambs are considered to be functional nonruminants, maternal milk enrichment with health-promoting FA by supplementing ewe diets with fat from appropriate sources could be a good strategy for naturally enhancing these FA levels in suckling lamb meat (Manso et al., 2011; Joy et al., 2012). In this regard, vegetable oil supplementation has been used in order to increase rumenic acid (RA) and PUFA n-3. However, increases in dietary PUFA intake appear to affect the rumen environment and thus, the biohydrogenation pathways of linoleic and linolenic acid (ALA) This results in a shift in intermediate FA characterized by an increased formation of *trans-10, cis-12* C18:2 and *trans-10* C18:1 instead of *cis-9, trans-11* C18:2 and *trans-11* C18:1 (Bauman and Griinari, 2003; Shingfield et al., 2010). *Trans-10, cis-12* CLA has possible detrimental effects on human health and has been shown to decrease the mammary synthesis of *de novo* FA and induce milk fat depression (Toral et al., 2010 a). In contrast, *cis-9, trans-11* CLA is more desirable because of its anticarcinogenic and other health-promoting properties (Lock et al., 2009).

Some studies have indicated a possible role for high doses of vitamin E in preventing shifts in PUFA biohydrogenation pathways (Pottier et al., 2006; Juárez et al., 2011), thus minimizing any negative effect of plant oil on milk production, milk fat yield and/or milk fatty acid composition. Vitamin E could act either as an inhibitor of bacteria producing *trans-10* C18:1 or as an electron acceptor for *Butyrivibrio fibrisolvens* (Pottier et al., 2006). Hou et al. (2013) have reported that vitamin E could

affect CLA content and the accumulation of biohydrogenation intermediates in rumen fluid.

On the other hand, it is well known that increasing the content of unsaturated fatty acids in muscle cell membranes increases their susceptibility to oxidation (Wood et al., 2004). Therefore, the addition of antioxidants to animal diets has emerged as a strategy for increasing the commercial value of meat, and one of the most widely used antioxidants in this regard is vitamin E. Vitamin E supplementation of lamb and ewe diets (Capper et al., 2005; Ripoll et al., 2011; Kasapidou et al., 2012) is usually carried out by using a synthetic source of α -tocopherol (all-rac- α -tocopheryl-acetate), due to its stability and lower cost in animal feeds (Vagni et al., 2011). However, the use of natural solutions to minimize oxidative rancidity and increase meat shelf-life is of growing interest due to consumer demand for natural products and their willingness to pay a price premium for natural foods. In view of the foregoing, another vitamin E source to consider is natural vitamin E (RRR- α -tocopheryl-acetate) which is derived from vegetable oils and exhibits higher biological activity than synthetic vitamin E (Lauridsen et al., 2002). Recent studies in dairy cows have estimated that the relative bioavailability of vitamin E from natural sources is 1.36 times greater than that of synthetic vitamin E (Meglia et al., 2006; Weiss et al., 2009).

We can therefore hypothesize that dietary supplementation with polyunsaturated oils could improve the fatty acid profiles of milk and suckling lamb meat. On the other hand, vitamin E could affect CLA content and the accumulation of biohydrogenation intermediates in milk and suckling lamb meat and prevent the adverse effects of PUFA on milk fat content, fatty acid profiles and oxidative stability of suckling lamb meat.

This study was undertaken because there are no specific studies comparing the effects of supplementing ewe diets enriched in polyunsaturated fatty acids with different sources of vitamin E on milk and suckling lamb meat. The aim of this work was to determine the effects of including linseed oil and vitamin E (natural or synthetic) in early lactating ewe diets on the meat quality of their suckling lambs, with particular reference to their fatty acid composition, and vitamin E content. An evaluation of the colour and lipid oxidation of lamb meat stored under refrigerated display conditions relative to maternal feeding was also conducted.

4. Material and methods

4.1. Animal and experimental diets

The study was carried out with forty-eight pregnant Churra ewes (BW 63.6 ± 9.17 kg). The ewes were selected before lambing and fed on the same basal diet that they would receive during the experimental period. Two days after lambing, each ewe, on the basis of milk production, age, initial BW, prolificacy and parity in randomisation, was assigned to one of four dietary treatments (12 ewes per treatment).

The experimental diets consisted of a total mixed ration (TMR) that varied according to the inclusion of linseed oil (LO) and the type of vitamin E (synthetic or natural). The four dietary treatments were: Control (without linseed oil), LO (with 3% linseed oil), LO + Syn E (LO plus 400 mg/kg TMR of synthetic vitamin E) and LO + Nat E (LO plus 400 mg/kg TMR of natural vitamin E). The ingredients and chemical composition of the experimental diets are given in Table 1.

Table 1. Ingredients and chemical composition of the experimental diets

	Diets ¹			
	Control	LO	LO-Syn E	LO-Nat E
Ingredients, % as feed				
Dehydrated alfalfa	39.18	38.02	38.02	38.02
Soybean meal	17.13	16.72	16.72	16.72
Corn grain	11.77	11.42	11.42	11.42
Oat grain	10.33	10.02	10.02	10.02
Barley grain	7.82	7.58	7.58	7.58
Beet pulp	7.82	7.58	7.58	7.58
Molasses	4.99	4.85	4.85	4.85
Linseed oil ²	-	2.87	2.87	2.87
Vitamin mineral premix	0.97	0.94	0.94	0.94
Chemical composition, %DM				
DM	88.30	88.67	89.10	88.27
Ash	7.78	7.74	7.91	7.79
Crude Protein	17.33	17.56	17.72	17.96
NDF	29.20	29.26	29.29	29.55
ADF	19.68	19.60	19.99	19.78
Ether extract	2.80	5.94	5.93	5.96

¹Diets supplemented without linseed oil and vitamin E (Control), with linseed oil (LO), with linseed oil and 400 mg/kg of synthetic vitamin E (LO-Syn E) and with linseed oil and 400 mg/kg of natural vitamin E (LO-Nat E); ² Fatty acid composition (%): C12:0, < 0.01; C14:0, 0.10; C15:0, < 0.01; C16:0, 6.20; C16:1, 0.10; C18:0, 4.90; C18:1, 21.90; C18:2, 14.80; C18:3, 51.30; C20:0, 0.20; C22:0, 0.10.

The experimental diets were fed to each ewe during the whole experimental period, twice a day with lucerne and concentrate at a 40:60 ratio, plus 10% of barley straw and fresh water ad libitum.

The newborn lambs (12 lambs per treatment), covered by the protected geographical indication (PGI) 'Lechazo de Castilla y León', remained with their respective mothers all day long and were fed exclusively by suckling throughout the whole experimental period (27 ± 2.7 days). All animal handling practices followed the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes.

4.2. Milk sampling and composition

The ewes were milked once a day in a 2 x 24 low-line Casse system milking parlour, with twelve milking units and two milkers. The milking machines (Alfa-Laval Iberia, S.A., Madrid, Spain) were set to provide 180 pulsations per minute with a 50:50 ratio at a vacuum level of 36 kPa. Milk production was recorded once a week by the oxytocine technique: before milking each ewe was injected with 0.35 cc of oxytocin (Oxiton[®], Laboratorios Ovejeros, S.A., Spain) and then immediately milked. Ewes were returned to their paddock between the two milking sessions while the lambs were confined. Milk samples were taken in milk collection jars. One sub-sample of milk was kept at 4°C until analysed for fat and protein, according to the International Dairy Federation (IDF, 2000), using a MilkoScan-400 analyser (Foss Electric, Hillerød, Denmark). Another two sub-samples were stored at -80°C for subsequent analysis of fatty acid and α -tocopherol concentrations.

4.3. Slaughter procedure, carcass and meat measurements

Lambs were weighed twice a week until they reached the slaughter live weight (approximately 12 kg). Then lambs were taken to a commercial EU-licensed abattoir, stunned and slaughtered by section of the jugular vein in the neck. After slaughter, the skin and all internal organs were removed and carcasses were immediately weighed (hot carcass weight, HCW) and transferred to a cooler at 4°C. After 24 hours, carcasses were weighed again (cold carcass weight, CCW), and chilling losses were calculated as the difference between HCW and CCW expressed as a proportion of the initial HCW. Dressing percentage was calculated as the ratio of CCW to slaughter live weight. Two

samples of *m. Longissimus dorsi* (dissected between the 6th and the 13th rib) were stored at -80°C, one for fatty acid composition analyses and the other for α -tocopherol level determination.

4.4. Chemical analysis

The chemical composition of the TMR was determined using the procedures described by the AOAC (2003).

The chemical composition of meat was determined on *m. Longissimus dorsi* samples, which were analysed for dry matter (AOAC official method 950.46), ash (AOAC official method 920.153) and crude protein (AOAC official method 981.10).

Fatty acid composition of fat from milk and muscle samples was determined by gas chromatography (GC Turbo 3400 CX, Varian Inc., Palo Alto, CA). Fat was extracted from milk and meat by using the method described by Nudda et al. (2008). The *Longissimus dorsi* samples from the left half of the carcass were lyophilized and finely ground before fat extraction. About 20 mg of extracted lipids were added with 1 ml of hexane containing nonadecanoic acid (C19:0) methyl ester (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, USA) as internal standard (0.5 mg/ml). The mixture was esterified by base-catalyzed methylation using 500 μ l of sodium methoxide in methanol (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, USA) according to the standard FIL-IDF procedure (FIL-IDF, 1999). The FAME was separated in a capillary column (CP-select CB for FAME; 100 m \times 0.32 mm i.d., 0.25 μ m film thickness, Varian Inc., Palo Alto, CA) and quantified using the internal standard. The injector and FID (flame-ionization detector) temperatures were 255 °C. For all samples the temperature programme was as follows: 75 °C for 1 min, increased by 8 °C/min to 165 °C, held for 35 min, increased by 5.5 °C/min to 210 °C, held for 1 min, and finally increased by 15 °C/min to 240 °C and held for 15 min. The split ratio was 1:40 and helium was the carrier gas with a pressure of 37 psi. The relative amount of each fatty acid (% of total FAME) is reported as a percentage of the total peak area for all fatty acids.

The *Longissimus dorsi* muscle from the right half of the suckling lamb carcass, was dissected and used to assess the changes in meat colour and fat oxidation (thiobarbituric acid reactive substances; TBARS). Meat samples were stored under refrigerated display conditions (4°C and fluorescent light) until they were analysed. The *m. Longissimus*

dorsi was divided into slices (25 mm thick), stored in polyethylene trays covered by an oxygen-permeable PVC film and randomly assigned to one of the storage periods: 0, 5, 9 and 12 days. After each storage period, colour was measured in three different locations on the top cut muscular surfaces of the slices, according to the CIE $L^*a^*b^*$ space using a portable spectrophotometer Minolta CM-2002 (Konica-Minolta Sensing, Japan). The extent of lipid oxidation was assessed (in duplicate), using the method of Maraschiello et al. (1999).

For vitamin E analysis in ewe milk, vitamin E was extracted from the milk using a method adapted from the procedure of Czauderna and Kowalczyk (2007), and for lamb meat using the method of Sampels et al. (2004). Subsequently, separation of vitamin E was carried out by HPLC (Rodas Mendoza et al., 2003) using a Separation Module (Walters 2690; Waters Corporation, Milford, MA), equipped with a Photodiode Array (Waters 996) detector and a C18 column, 250 x 3.00 mm i.d. (OmniSpher 5; Varian Inc., Palo Alto, CA, USA). Elution was performed with 100% methanol as the mobile phase at a flow rate of 1 ml/min, with the column kept at 50°C during analysis.

4.5. Statistical analysis

Statistical procedures were conducted using the SAS 9.2. software package (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA) and the statistical significance of the differences were defined as P values < 0.05. Average daily gain was estimated by regression of live weight against time, using the REG procedure. Data regarding milk yield and composition as well as colour and TBARS of lamb meat were analysed by repeated measurements analyses using the MIXED procedure and included the fixed effects of the experimental diet (D), time of sampling (T) and their interaction (D x T). The rest of the parameters were statistically analysed by one-way analysis of variance using the general linear model (PROC GLM). Within this analysis, the following contrasts were carried out: (i) Control vs LO and LO-Syn E and LO-Nat E (ii) Control vs LO, (iii) LO vs LO-Syn E and LO-Nat E, (iv) LO-SynE vs LO-Nat E. The CORR procedure was used to calculate the correlation coefficients of the FA, TBARS and vitamin E content in milk and meat. Differences were declared significant for P < 0.05 and tendencies for P < 0.10.

5. Results

As shown in Table 2, dry matter intake, milk and protein yields were not modified by dietary treatment and LO treatment did not significantly increase milk fat content and yield compared to Control. However, dietary supplementation of linseed oil plus vitamin E (LO-Syn E and LO-Nat E) decreased the protein content ($P < 0.05$) and increased ($P < 0.05$) the milk fat content and yield with the same results ($P > 0.05$), irrespective of whether diets were supplemented with synthetic or natural vitamin E.

Table 2. Milk production and chemical composition of milk

	Diets ¹				SED	P value ²		
	Control	LO	LO-Syn E	LO-Nat E		D	T	D x T
Intake g DM day ⁻¹	2283	2287	2413	2224	132.2	ns	ns	ns
Yield, g/day								
Milk	2174	2203	2357	2491	223.4	ns	ns	ns
Fat	123.6 ^a	128.1 ^a	156.5 ^{ab}	174.9 ^b	19.02	*	ns	ns
Protein	95.7	100.1	100.7	109.4	10.29	ns	ns	ns
Composition, %								
Fat	5.67 ^a	6.16 ^{ab}	6.71 ^b	6.74 ^b	0.385	*	*	ns
Protein	4.54 ^a	4.56 ^a	4.28 ^b	4.39 ^{ab}	0.102	*	***	ns

SED: standard error of difference.

¹Diets supplemented without linseed oil and vitamin E (Control), with linseed oil (LO), with linseed oil and 400 mg/Kg of synthetic vitamin E (LO-Syn E) and with linseed oil and 400 mg/kg of natural vitamin E (LO-Nat E)

²Effects caused by experimental diet (D), time on diet (T), and their interaction (D x T)

^{a,b}: Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$)

† $P < 0.10$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

Lamb performance, carcass characteristics and meat chemical composition are shown in Table 3. No differences attributable to any experimental treatments were observed for animal performance and carcass characteristics ($P > 0.05$), but fat content was affected significantly, increasing both with LO supplementation and natural vitamin E.

Table 3. Animal performance, carcass characteristics and meat chemical composition of suckling lambs

	Diets ¹				RSD	P value	Contrast ²			
	Control	LO	LO-Syn E	LO-Nat E			1	2	3	4
Animal performance										
Birth body weight (kg)	4.22	4.19	4.38	4.13	0.628	ns	ns	ns	ns	ns
Slaughter weight (kg)	12.81	12.37	12.84	12.19	1.184	ns	ns	ns	ns	ns
Average daily gain (g animal ⁻¹ day ⁻¹)	310	293	314	286	41.0	ns	ns	ns	ns	ns
Carcass characteristics										
Hot carcass weight (kg)	7.04	6.79	7.12	6.59	0.719	ns	ns	ns	ns	†
Cold carcass weight (kg)	6.88	6.65	6.97	6.45	0.707	ns	ns	ns	ns	†
Chilling losses (%)	2.24	2.06	2.17	2.12	0.667	ns	ns	ns	ns	ns
Dressing percentage (%)	46.23	46.25	45.74	47.19	2.120	ns	ns	ns	ns	ns
Kidney knob fat (g)	216	209	245	206	73.8	ns	ns	ns	ns	ns
Omental fat (g)	118	118	139	134	41.0	ns	ns	ns	ns	ns
Meat chemical composition										
Moisture	75.46	74.84	75.92	74.75	1.044	ns	ns	ns	ns	†
Protein	19.56	19.72	20.36	20.39	0.636	†	†	ns	†	ns
Total Fat	2.79	3.55	2.38	3.52	0.755	*	ns	†	ns	*
Ash	1.42	1.36	1.29	0.98	0.173	*	ns	*	*	*

RSD: residual standard deviation

¹Diets supplemented without linseed oil and vitamin E (Control), with linseed oil (LO), with linseed oil and 400 mg/kg of synthetic vitamin E (LO-Syn E) and with linseed oil and 400 mg/kg of natural vitamin E (LO-Nat E)

²Orthogonal contrasts were (1) effect of linseed oil supplementation (Control vs. linseed oil diets), (2) effect of Control diet vs. LO diet, (3) effect of vitamin E addition (LO diet vs. LO-Syn E and LO-Nat E diets), (4) effect of LO-Syn E diet vs. LO-Nat E diet.

† P < 0.10, * P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001

The fatty acid profiles of milk fat from ewes of the different experimental treatments are given in detail in Table 4. There were large differences in milk FA profiles due to linseed oil supplementation (Control vs. LO and LO-Syn E and LO-Nat E), whereas the effects of supplementing with vitamin E (LO vs LO-Syn E and LO-Nat E), whether synthetic or natural, (LO-Syn E vs. LO-Nat E) were limited. With LO diets milk percentages of short (P < 0.01) and medium-chain FA (P < 0.001) decreased and long-chain FA increased (P < 0.001) compared with the Control diet. Dietary inclusion of linseed oil decreased the total SFA percentage (P < 0.001) with a concomitant increase in the MUFA (P < 0.01) and PUFA concentrations (P < 0.001).

Table 4. Milk fatty acid profile (g/100 g of total fatty acid methyl esters)

	Diets ¹				RSD	P value	Contrast ²			
	Control	LO	LO-Syn E	LO-Nat E			1	2	3	4
Saturated (SFA)										
C4:0	2.78	2.93	3.19	3.01	0.263	†	*	ns	ns	ns
C6:0	2.18	1.88	1.89	1.64	0.319	†	*	ns	ns	ns
C8:0	2.27	1.76	1.71	1.40	0.401	*	**	*	ns	ns
C10:0	7.38	5.38	5.26	4.27	1.453	*	**	*	ns	ns
C11:0	0.08	0.05	0.04	0.03	0.031	†	*	ns	ns	ns
C12:0	4.46	3.41	3.30	2.80	0.855	*	**	*	ns	ns
C13:0 <i>iso</i>	0.01	0.02	0.01	0.01	0.006	ns	ns	ns	ns	ns
C13:0 <i>anteiso</i>	0.02	0.01	0.03	0.02	0.009	*	ns	ns	**	ns
C13:0	0.08	0.06	0.05	0.05	0.023	†	*	ns	ns	ns
C14:0 <i>iso</i>	0.10	0.06	0.06	0.06	0.019	**	***	***	ns	ns
C14:0	9.74	8.76	9.17	8.40	1.109	ns	†	ns	ns	ns
C15:0 <i>iso</i>	0.20	0.15	0.16	0.15	0.040	ns	*	†	ns	ns
C15:0 <i>anteiso</i>	0.36	0.32	0.29	0.29	0.049	†	*	ns	ns	ns
C15:0	0.88	0.75	0.68	0.70	0.106	*	**	*	ns	ns
C16:0 <i>iso</i>	0.31	0.30	0.21	0.20	0.115	ns	ns	ns	ns	ns
C16:0	24.40	20.50	21.53	20.95	1.775	**	**	**	ns	ns
C17:0 <i>iso</i>	0.45	0.39	0.38	0.38	0.043	*	**	*	ns	ns
C17:0 <i>anteiso</i>	0.50	0.40	0.38	0.39	0.054	**	**	**	ns	ns
C17:0	0.77	0.57	0.53	0.63	0.148	†	*	*	ns	ns
C18:0	12.72	12.65	13.35	15.10	2.288	ns	ns	ns	ns	ns
C22:0	0.11	0.12	0.13	0.11	0.019	ns	ns	ns	ns	ns
C24:0	0.05	0.05	0.05	0.04	0.013	ns	ns	ns	ns	ns
Monounsaturated (MUFA)										
C10:1	0.18	0.12	0.12	0.10	0.048	*	**	*	ns	ns
<i>cis</i> -9 C14:1	0.11	0.10	0.09	0.10	0.026	ns	ns	ns	ns	ns
C16:1 n-9	0.26	0.29	0.26	0.29	0.042	ns	ns	ns	ns	ns
C16:1 n-7	0.51	0.47	0.44	0.58	0.082	*	ns	ns	ns	*
<i>trans</i> -6+7+8 C18:1	0.24	0.80	0.77	0.95	0.270	**	***	**	ns	ns
<i>trans</i> -9 C18:1	0.22	0.34	0.49	0.31	0.194	ns	†	ns	ns	ns
<i>trans</i> -10 C18:1	0.46	3.52	2.37	3.47	2.301	ns	*	*	ns	ns
<i>trans</i> -11 C18:1 (VA)	1.16	3.55	4.66	3.28	1.175	***	***	**	ns	†
<i>cis</i> -9 C18:1	20.54	18.85	17.61	20.16	3.717	ns	ns	ns	ns	ns
<i>cis</i> -10 + <i>trans</i> 15 C18:1	0.15	0.99	0.62	0.57	0.705	ns	†	†	ns	ns
<i>cis</i> -11 C18:1	0.68	1.12	1.02	1.21	0.285	*	**	*	ns	ns
<i>cis</i> -12 C18:1	0.35	0.84	0.80	0.71	0.177	***	***	***	ns	ns
<i>cis</i> -13 C18:1	0.04	0.19	0.17	0.22	0.118	†	*	*	ns	ns
<i>cis</i> -15 C18:1	0.13	0.13	0.13	0.13	0.035	ns	ns	ns	ns	ns
C22:1 n-9	0.02	0.08	0.09	0.08	0.020	***	***	***	ns	ns
<i>cis</i> -15 C24:1	0.02	0.01	0.01	0.01	0.006	ns	ns	ns	ns	ns
<i>cis</i> -15 C24:1	0.02	0.01	0.01	0.01	0.006	ns	ns	ns	ns	ns

(continued)

Table 4. Continued

	Diets ¹				RSD	P value	Contrast ²			
	Control	LO	LO-Syn E	LO-Nat E			1	2	3	4
Polyunsaturated (PUFA)										
<i>trans</i> -9, <i>trans</i> -12 C18:2	0.09	0.21	0.17	0.20	0.061	*	**	**	ns	ns
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 CLA	0.46	1.31	1.46	0.97	0.448	**	**	**	ns	†
<i>trans</i> -9, <i>cis</i> -7 CLA+ C20:0	0.26	0.27	0.29	0.28	0.028	ns	†	ns	ns	ns
<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 CLA	0.01	0.05	0.07	0.03	0.031	*	**	*	ns	*
<i>cis</i> -11, <i>cis</i> -13 CLA	0.01	0.15	0.15	0.14	0.028	***	***	***	ns	ns
<i>trans</i> -11, <i>trans</i> -13 CLA	0.01	0.08	0.09	0.10	0.034	***	***	**	ns	ns
<i>trans</i> -9, <i>trans</i> -11 CLA + C20:1	0.06	0.15	0.15	0.14	0.037	**	***	***	ns	ns
C18:2 n-6 (LA)	2.79	4.08	3.93	3.82	0.792	*	**	*	ns	ns
C18:3 n-6 (γ -linolenic acid)	0.08	0.03	0.04	0.01	0.038	*	**	*	ns	ns
C18:3 n-9	0.02	0.03	0.03	0.03	0.013	ns	*	†	ns	ns
C18:3 n-4	0.00	0.03	0.03	0.02	0.013	**	**	**	ns	ns
C18:3 n-3 (ALA)	0.52	1.08	0.98	0.89	0.188	***	***	***	ns	ns
C18:4 n-3	0.02	0.04	0.03	0.03	0.017	ns	ns	†	ns	ns
C20:2 n-6	0.02	0.03	0.02	0.02	0.009	ns	ns	ns	ns	ns
C20:3 n-9	0.11	0.08	0.08	0.07	0.013	***	***	***	ns	ns
C20:3 n-6	0.04	0.03	0.03	0.03	0.009	**	**	†	ns	ns
C20:4 n-6 (AA)	0.23	0.13	0.12	0.12	0.033	***	***	***	ns	ns
C20:3 n-3	0.00	0.02	0.01	0.01	0.004	**	***	***	ns	ns
C20:4 n-3	0.00	0.01	0.00	0.01	0.005	*	ns	*	*	ns
C20:5 n-3 (EPA)	0.05	0.04	0.04	0.04	0.008	ns	*	ns	ns	ns
C22:2 n-6	0.06	0.06	0.06	0.05	0.015	ns	ns	ns	ns	ns
C22:4 n-6	0.03	0.02	0.01	0.01	0.009	*	**	*	ns	ns
C22:5 n-3 (DPA)	0.12	0.09	0.08	0.10	0.023	†	*	*	ns	ns
C22:6 n-3 (DHA)	0.06	0.04	0.04	0.04	0.011	**	**	*	ns	ns
SCFA	14.87	12.13	12.20	10.45	2.199	*	**	*	ns	ns
MCFA	43.16	36.56	37.59	36.00	3.350	**	**	**	ns	ns
LCFA	41.97	51.31	50.20	53.55	5.080	**	**	**	ns	ns
SFA	69.84	60.54	62.40	60.63	4.091	**	***	***	ns	ns
MUFA	25.08	31.40	29.65	32.18	3.580	*	**	**	ns	ns
PUFA	5.07	8.06	7.95	7.20	1.001	***	***	***	ns	ns
PUFA n-3	0.78	1.33	1.29	1.13	0.193	***	***	***	ns	ns
PUFA n-6	3.26	4.37	4.20	4.06	0.771	†	*	*	ns	ns
Ratios										
14:1 desaturase index ³	0.01	0.01	0.01	0.01	0.002	ns	ns	ns	ns	ns
16:1 desaturase index ³	0.03	0.03	0.03	0.04	0.004	**	*	†	ns	**
18:1 desaturase index ³	0.65	0.71	0.68	0.67	0.038	ns	†	*	ns	ns
CLA desaturase index ³	0.29	0.27	0.24	0.23	0.036	*	*	ns	*	ns

RSD: residual standard deviation; ¹Diets supplemented without linseed oil and vitamin E (Control), with linseed oil (LO), with linseed oil and 400 mg/kg of synthetic vitamin E (LO-Syn E) and with linseed oil and 400 mg/kg of natural vitamin E (LO-Nat E); ²Orthogonal contrasts were (1) effect of linseed oil supplementation (Control vs. linseed oil diets), (2) effect of Control diet vs. LO diet, (3) effect of vitamin E addition (LO diet vs. LO-Syn E and LO-Nat E diets), (4) effect of LO-Syn E diet vs. LO-Nat E diet.

³14:1 desaturase index = C14:1/(C14:0 + C14:1); desaturase index = C18:1/ (C18:0 + C18:1); CLA desaturase index = *cis*-9, *trans*-11 C18:2/ (*cis*-9, *trans*-11 C18:2 + *trans*-11 C18:1); † P < 0.10, * P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001

With reference to individual saturated and monounsaturated fatty acids, milk from ewes supplemented with LO had lower percentages of C8:0, C10:0, C12:0 ($P < 0.01$) and C16:0 ($P < 0.01$) and higher percentages of *trans*-6/7/8 ($P < 0.001$), *trans*-9 ($P < 0.1$), *trans*-10 ($P < 0.05$) and *trans*-11 C18:1 ($P < 0.001$) than Control. However, no statistically significant differences ($P > 0.05$) in these FA were observed due to vitamin E supplementation.

The percentage of linoleic acid (*cis*-9, *cis*-12 C18:2) and its isomers, such as *cis*-9 *trans*-11 C18:2 (RA) and *trans*-10, *cis*-12 C18:2, were higher ($P < 0.01$) in treatments supplemented with linseed oil (LO, LO-Syn E and LO-Nat E) than in Control. The LO-Syn E treatment resulted in a higher percentage of RA (1.46 vs. 0.97, $P < 0.01$) and *trans*-10, *cis*-12 C18:2 (0.07 vs. 0.03, $P < 0.05$) than LO-Nat E treatments.

The proportion of ALA in milk increased 2-fold with the LO diet compared with the Control diet. Eicosapentaenoic acid (C20:5 n-3, EPA), docosapentaenoic acid (C22:5 n-3, DPA) and docosahexaenoic acid (C22:6 n-3, DHA) contents were extremely low, as commonly occurs in ruminant milk. Although milk from ewes fed with linseed oil had lower concentrations of EPA ($P < 0.05$), DPA ($P < 0.05$) and DHA ($P < 0.01$), the concentration of total n-3 PUFA was higher ($P < 0.001$) in milk from ewes supplemented with LO. The n-6/n-3 ratio was highest in milk fat from Control ewes ($P < 0.01$); no differences ($P > 0.05$) were observed between LO diets due to vitamin E supplementation.

Suckling lamb meat FA patterns were similar to those from the lactating dam milk (Table 5), with C16:0 and *cis*-9 C18:1 being the most abundant FA in intramuscular fat. Control lambs registered the highest concentrations of total saturated FA ($P < 0.01$) and the lowest ($P < 0.01$) of total monounsaturated FA. Accordingly, milk fatty acid composition of short ($P < 0.01$) and medium-chain FA ($P < 0.001$) decreased and long-chain FA increased ($P < 0.001$) in intramuscular fat with diets containing LO compared with the control diet.

Table 5. FA composition (g/100 g of total fatty acids) of intramuscular fat of lambs suckling from ewes receiving diets supplemented with or without linseed oil and with synthetic or natural vitamin E.

	Diets ¹				RSD	P value	Contrast ²			
	Control	LO	LO-Syn E	LO-Nat E			1	2	3	4
Saturated (SFA)										
C8:0	0.01	0.01	0.01	0.01	0.004	†	*	ns	ns	ns
C10:0	0.37	0.29	0.20	0.26	0.078	**	**	†	ns	ns
C11:0	0.01	0.01	0.01	0.01	0.003	*	†	ns	**	ns
C12:0	0.74	0.54	0.37	0.52	0.165	**	**	*	ns	ns
C13:0 <i>iso</i>	0.00	0.01	0.00	0.00	0.009	ns	ns	ns	ns	ns
C13:0 <i>anteiso</i>	0.02	0.01	0.01	0.01	0.004	**	**	*	ns	ns
C13:0	0.03	0.03	0.02	0.02	0.006	**	**	†	†	ns
C14:0 <i>iso</i>	0.04	0.02	0.02	0.02	0.009	**	***	**	ns	ns
C14:0	6.85	6.35	5.29	6.12	0.891	*	*	ns	ns	ns
C15:0 <i>iso</i>	0.09	0.08	0.06	0.07	0.018	*	*	ns	†	ns
C15:0 <i>anteiso</i>	0.15	0.11	0.09	0.11	0.025	**	**	*	ns	ns
C15:0	0.48	0.39	0.32	0.37	0.070	**	**	*	ns	ns
C16:0 <i>iso</i>	0.19	0.15	0.13	0.14	0.029	**	**	*	ns	ns
C16:0	24.02	22.43	20.55	21.68	1.412	**	**	†	†	ns
C17:0 <i>iso</i>	0.48	0.42	0.37	0.37	0.038	***	***	**	*	ns
C17:0 <i>anteiso</i>	0.49	0.39	0.37	0.35	0.054	**	***	**	ns	ns
C17:0	0.96	0.72	0.73	0.74	0.213	**	***	***	ns	ns
C18:0	13.52	13.47	13.32	14.31	1.052	ns	ns	ns	ns	ns
C22:0	0.03	0.02	0.02	0.02	0.006	*	**	*	ns	ns
C24:0	0.10	0.06	0.10	0.06	0.029	*	†	*	ns	*
Monounsaturated (MUFA)										
C10:1	0.01	0.01	0.01	0.01	0.004	ns	†	ns	†	ns
<i>cis</i> -9 C14:1	0.26	0.23	0.20	0.20	0.036	*	*	ns	ns	ns
C16:1 n-9	0.31	0.33	0.30	0.33	0.047	ns	ns	ns	ns	ns
C16:1 n-7	1.77	1.62	1.53	1.51	0.223	ns	†	ns	ns	ns
<i>trans</i> -6+7+8 C18:1	0.16	0.50	0.41	0.59	0.142	***	***	***	ns	*
<i>trans</i> -9 C18:1	0.19	0.41	0.32	0.42	0.076	***	***	***	ns	†
<i>trans</i> -10 C18:1	0.30	1.00	1.13	1.38	0.686	†	*	†	ns	ns
<i>trans</i> -11 C18:1	0.67	3.09	3.10	3.66	0.908	***	***	***	ns	ns
<i>cis</i> -9 C18:1	32.82	32.44	31.88	31.64	2.810	ns	ns	ns	ns	ns
<i>cis</i> -10 + <i>trans</i> 15 C18:1	0.55	0.27	0.35	0.17	0.254	†	*	†	ns	ns
<i>cis</i> -11 C18:1	1.02	0.98	1.11	1.05	0.111	ns	ns	ns	†	ns
<i>cis</i> -12 C18:1	0.33	1.08	0.95	0.95	0.180	***	***	***	ns	ns
<i>cis</i> -13 C18:1	0.06	0.15	0.13	0.16	0.038	**	***	***	ns	ns
<i>cis</i> -15 C18:1	0.18	0.18	0.17	0.16	0.041	ns	ns	ns	ns	ns
<i>cis</i> -15 C24:1	0.01	0.01	0.01	0.01	0.004	ns	ns	ns	ns	ns
Polyunsaturated (PUFA)										
<i>trans</i> -9, <i>trans</i> -12 C18:2	0.09	0.29	0.19	0.23	0.046	***	***	***	**	ns
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 CLA	0.50	1.62	1.54	1.63	0.386	***	***	***	ns	ns
<i>trans</i> -9, <i>cis</i> -7 CLA + C20:0	0.17	0.14	0.14	0.15	0.025	ns	*	*	ns	ns
<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 CLA	0.00	0.05	0.06	0.06	0.021	***	***	***	ns	ns
<i>cis</i> -11, <i>cis</i> -13 CLA	0.02	0.13	0.12	0.15	0.033	***	***	***	ns	ns
<i>trans</i> -11, <i>trans</i> -13 CLA	0.03	0.03	0.03	0.05	0.021	ns	ns	ns	ns	ns
<i>trans</i> -9, <i>trans</i> -11 CLA + C20:1	0.12	0.15	0.16	0.16	0.025	*	**	†	ns	ns
C18:2 n-6 (LA)	5.97	5.61	7.23	5.74	0.947	*	ns	ns	†	*
C18:3 n-6 (γ -linolenic acid)	0.07	0.05	0.08	0.07	0.017	*	ns	†	**	ns

(continued)

Table 5. Continued

	Diets ¹				RSD	P value	Contrast ²			
	Control	LO	LO-Syn E	LO-Nat E			1	2	3	4
<i>Polyunsaturated (PUFA)</i>										
C18:3 n-9	0.06	0.03	0.04	0.03	0.013	*	**	**	ns	ns
C18:3 n-4	0.00	0.02	0.02	0.02	0.008	***	***	**	ns	ns
C18:3 n-3 (ALA)	0.62	0.97	1.21	1.05	0.219	**	***	*	ns	ns
C18:4 n-3	0.03	0.03	0.03	0.03	0.010	ns	ns	ns	ns	ns
C20:2 n-6	0.06	0.04	0.05	0.04	0.010	**	**	**	ns	*
C20:3 n-9	0.38	0.28	0.46	0.28	0.124	†	ns	ns	ns	*
C20:3 n-6	0.20	0.12	0.19	0.12	0.048	**	*	**	ns	*
C20:4 n-6 (AA)	2.67	1.41	2.62	1.45	0.677	**	*	**	†	**
C20:3 n-3	0.03	0.02	0.03	0.02	0.008	ns	ns	ns	ns	ns
C20:4 n-3	0.02	0.02	0.02	0.01	0.006	ns	ns	ns	ns	ns
C20:5 n-3 (EPA)	0.30	0.27	0.57	0.31	0.147	**	ns	ns	*	**
C22:2 n-6	0.01	0.02	0.02	0.02	0.009	ns	ns	ns	ns	ns
C22:4 n-6	0.26	0.14	0.22	0.13	0.057	**	**	*	ns	*
C22:5 n-3 (DPA)	0.77	0.51	0.87	0.56	0.235	*	ns	†	†	*
C22:6 n-3 (DHA)	0.41	0.25	0.51	0.26	0.161	*	ns	ns	†	*
SCFA	0.40	0.32	0.22	0.28	0.082	**	**	†	ns	ns
MCFA	36.89	33.83	30.36	32.57	2.400	**	**	*	†	ns
LCFA	62.71	65.85	69.42	67.14	2.456	**	**	*	†	ns
SFA	48.60	45.51	41.97	45.20	2.802	**	**	†	ns	†
MUFA	38.62	42.30	41.60	42.22	2.456	†	**	*	ns	ns
PUFA	12.78	12.19	16.43	12.58	2.330	*	ns	ns	†	**
PUFA n-3	2.17	2.06	3.24	2.25	0.631	*	ns	ns	*	*
PUFA n-6	9.24	7.38	10.41	7.58	1.599	*	ns	†	†	**
<i>Ratios</i>										
n-6 / n-3	4.32	3.65	3.31	3.40	0.500	**	**	*	ns	ns
14:1 desaturase index ³	0.04	0.03	0.04	0.03	0.006	ns	ns	ns	ns	ns
16:1 desaturase index ³	0.08	0.08	0.08	0.08	0.009	ns	ns	ns	ns	ns
18:1 desaturase index ³	0.73	0.75	0.75	0.74	0.021	ns	ns	ns	ns	ns
CLA desaturase index ³	0.43	0.35	0.34	0.31	0.037	***	***	**	ns	ns

RSD: residual standard deviation; ¹Diets supplemented without linseed oil and vitamin E (Control), with linseed oil (LO), with linseed oil and 400 mg/kg of synthetic vitamin E (LO-Syn E) and with linseed oil and 400 mg/kg of natural vitamin E (LO-Nat E); ²Orthogonal contrasts were (1) effect of linseed oil supplementation (Control vs. linseed oil diets), (2) effect of Control diet vs. LO diet, (3) effect of vitamin E addition (LO diet vs. LO-Syn E and LO-Nat E diets), (4) effect of LO-Syn E diet vs. LO-Nat E diet
³14:1 desaturase index = C14:1/(C14:0 + C14:1); 16:1 desaturase index = C16:1/ (C16:0 + C16:1); 18:1 desaturase index = C18:1/ (C18:0 + C18:1); CLA desaturase index = *cis-9, trans-11* C18:2/ (*cis-9, trans-11* C18:2 + *trans-11* C18:1) ; † P < 0.10, * P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001

With reference to individual fatty acids, C10:0, C12:0 (P < 0.01), C14:0 (P < 0.05) and C16:0 (P < 0.01) were higher in Control lambs, and linseed oil supplementation was accompanied by significant increases in *trans* C18:1, *trans* C18:2 and C18:3 n-3. In particular, *trans-10* C18:1 (P < 0.05), VA (P < 0.001), RA (P < 0.001), *trans-10, cis-12*

C18:2 ($P < 0.001$) were higher in LO diets and C18:3 n-3 ($P < 0.001$) in intramuscular fat. Even so, no statistically significant differences ($P > 0.05$) were observed in these FA due to vitamin E supplementation whether synthetic or natural.

PUFA n-3 content, including long chain PUFA (LCFA, $C > 20$), was not affected by the LO diet. Meat from treatments supplemented with vitamin E had higher levels of EPA ($P < 0.05$), DPA ($P < 0.10$) and DHA ($P < 0.10$) and these fatty acid levels were even higher ($P < 0.05$) when the type of vitamin supplemented was synthetic. The n-6/n-3 ratio was the lowest ($P < 0.01$) in intramuscular fat from linseed oil treatments and no differences ($P > 0.05$) were observed due to vitamin E supplementation of the ewe diet, irrespective of the origin of the vitamin E.

Vitamin E concentration in milk and in intramuscular fat was influenced by dietary treatments (Table 6). Supplementing the ewe diet with vitamin E (LO vs. LO-Syn E and LO-Nat E) increased the vitamin E content in milk ($P < 0.001$) and meat ($P < 0.05$) and these vitamin E levels were positively correlated ($r = 0.75$, $P < 0.001$). Although milk from LO-Nat E treatment had more vitamin E than milk from LO-Syn E ($P < 0.001$), no such differences were found in suckling lambs meat ($P > 0.05$) as a result of the type of vitamin E used.

Table 6. Vitamin E concentrations in ewe milk and in intramuscular fat of suckling lambs.

	Diets ¹				RSD	P value	Contrast ²			
	Control	LO	LO-Syn E	LO-Nat E			1	2	3	4
Milk, μg	0.08	0.09	0.53	1.45	0.253	***	***	ns	***	***
<i>Longissimus dorsi</i> , μg	0.88	0.91	1.30	1.53	0.373	*	†	ns	*	ns

RSD: residual standard deviation; ¹Diets supplemented without linseed oil and vitamin E (Control), with linseed oil (LO), with linseed oil and 400 mg/kg of synthetic vitamin E (LO-Syn E) and with linseed oil and 400 mg/kg of natural vitamin E (LO-Nat E); ²Orthogonal contrasts were (1) effect of linseed oil supplementation (Control vs. linseed oil diets), (2) effect of Control diet vs. LO diet, (3) effect of vitamin E addition (LO diet vs. LO-Syn E and LO-Nat E diets), (4) effect of LO-Syn E diet vs. LO-Nat E diet; † $P < 0.10$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

The evolution of lightness (L^*), yellowness (b^*), redness (a^*) and hue (H^*) values of m. *Longissimus dorsi* stored under refrigerated display conditions, are shown in Figure 1 and the evolution of TBARS is shown in Figure 2.

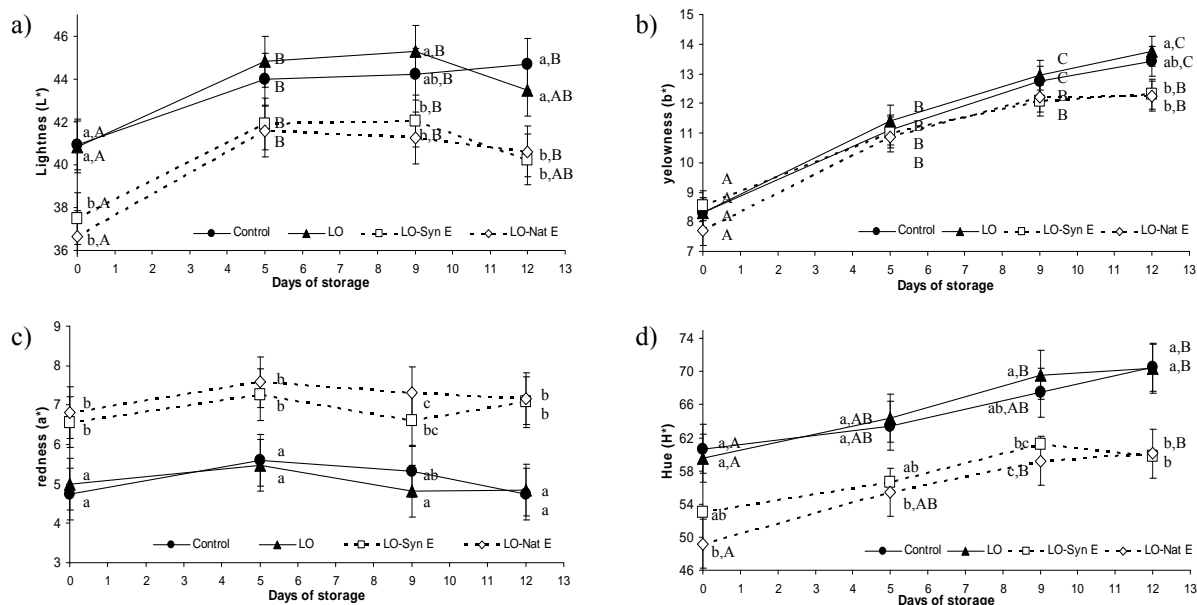


Figure 1. Effect of ewe treatments on the development of lightness (a), yellowness (b), redness (c) and hue (d) in suckling lamb *Longissimus dorsi* muscle samples stored at refrigerated display conditions for 12 days in polyethylene trays by an oxygen-permeable PVC film. Different minuscule letters mean significant differences ($P < 0.05$) between treatments within time and capital letters mean significant differences ($P < 0.05$) between time within treatment. The error bars represent standard error.

There were no differences between Control and LO diets with respect to colour variables and their evolution ($P > 0.05$). However, although LO diets showed a similar evolution for all these variables, L^* , b^* and H^* had higher values and a^* lower values than diets supplemented with vitamin E (LO-Syn E and LO-Nat E). No differences were found between LO-Syn-E and LO-Nat-E ($P > 0.05$).

Initial L^* , a^* , b^* and H^* values of LO lambs were similar to those of Control lambs ($P > 0.05$), whereas vitamin supplemented (LO-Nat E and LO-Syn E) lambs had a significantly lower L^* and b^* and higher a^* than LO and Control (Figure 1a, 1c and 1d; $P < 0.05$) irrespective of the type of vitamin E supplement. From this point on, all samples increased their L^* values until day 9, and then from day 9 to day 12 the lightness values of LO, LO-Syn E and LO-Nat E samples decreased. Likewise, a^* and

H* values evolved in a similar way in all treatments studied (Control, LO, LO-Nat E and LO-Syn E), as can be seen in Figures 1c and 1d.

With reference to TBARS (Figure 2) there was a significant interaction between treatment and time ($P < 0.001$) even though there were no significant differences between treatments on day 0 ($P > 0.05$). Nevertheless, treatments with vitamin E (LO-Syn E and LO-Nat E), kept TBARS values constantly low (0.1 – 0.6 mg MDA/kg muscle), while treatments without vitamin E (Control and LO) produced values above 1.0 mg MDA/kg muscle and even reached values greater than 2.0 over time in storage. LO had higher TBARS values ($P < 0.05$) at 5 and 12 days than the Control treatment. In general, the relationship between TBARS and meat fatty acid was not strong, but TBARS values at 5 and 9 days were negatively correlated with the level of vitamin E in meat ($r = -0.44$, $P < 0.05$; $r = -0.56$, $P < 0.05$).

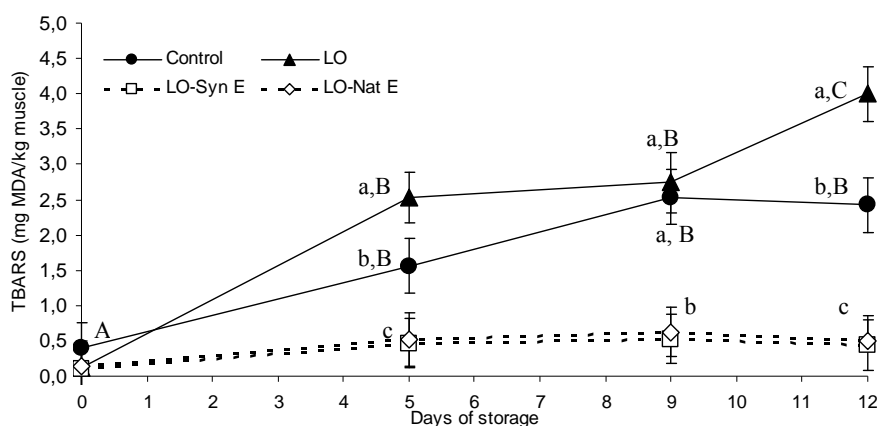


Figure 2. Effect of ewe treatments on the evolution of lipid oxidation during suckling lamb meat display time (TBARS). Different minuscule letters mean significant differences ($P < 0.05$) between treatments within time and capital letters mean significant differences ($P < 0.05$) between time within treatment. The error bars represent standard error.

6. Discussion

6.1. Animal performance

In agreement with previous experiments, dairy ewe milk yield during nursing (Casals et al., 2006) and milking (Toral et al., 2010 b) was not modified by supplementation with additional fat. As a positive milk yield response to fat supplementation has only been observed when energy limiting diets were used as Control, no differences were expected between Control and LO diets in this study. Milk yield was only numerically elevated in treatments with linseed oil, probably due to the higher energy content of these diets because there were no differences in dry matter intake.

Milk protein yield was not affected by oil supplementation. The lower milk protein content caused by vitamin E supplemented diets could be related to a dilution effect resulting from milk yield rather than from reduced availability of amino acids in the mammary gland or protein insulin resistance as previously reported by Pulina et al., (2006).

Because no differences were found in dry matter intake between treatments, an increase in milk fat yield and content would be expected from ewes assigned to the linseed oil treatment (LO, LO-Syn E, LO-Nat E) compared with Control ewes without fat-supplemented diets. Even so, LO treatment only caused a significant increase in milk fat yield and content compared with non-supplemented ewes (Control treatment) when LO diets were supplemented with vitamin E (LO-Syn E and LO-Nat E).

Shingfield and Griinari, (2007) suggested that *trans*-10 C18:1 and *trans*-10, *cis*-12 C18:2 are associated with changes in rumen lipid metabolism and could contribute toward inhibiting milk fat synthesis in the udder. It has been reported that vitamin E may play a role in preventing the *trans*-10 shift in rumen biohydrogenation pathways and subsequently alleviate a diet-induced low milk fat syndrome (Pottier et al., 2006).

Our results are in agreement with those of Gómez-Cortés et al. (2008) who suggested that the response of sheep to supplementation with high concentrations of lipids, rich in PUFA, and the generation of *trans*-10 C18:1 and *trans*-10, *cis*-12 C18:2 isomers involved in milk fat depression did not significantly change milk fat in ewes.

It was reported that vitamin E may be involved in preventing the *trans-10* shift in rumen biohydrogenation pathways and thereby alleviate a diet induced low milk fat syndrome (Pottier et al., 2006). Our results are consistent with the results reported by Bell et al. (2006) in cows, who proposed that vitamin E supplementation could mitigate the effect of vegetable oil supplementation on milk fat depression (MFD), increasing both milk fat percentage and yield. However, the FA profile was unaltered and remained characteristic of MFD, with increases in *trans-10* C18:1 and *trans-10, cis-12* C18:2 content in milk fat. Thus, other vitamin E mechanisms, different from changing biohydrogenation pathways as reported in cows (Pottier et al., 2006; Bell et al., 2006), must also be preventing milk fat depression. These additional mechanisms should be investigated in lactating ewes to explain why LO and vitamin E supplemented diets produce higher levels of milk fat compared to Control diets.

The fact that suckling lambs were fed exclusively on maternal milk and that the milk yield did not limit lamb growth may explain the similarity between lamb performance and carcass characteristics due to linseed oil, vitamin E supplementation and the type of vitamin E (synthetic or natural). Similar results were reported by Manso et al. (2011) and Capper et al. (2007) in suckling lambs fed with different oils and supplemented with vitamin E respectively.

6.2. Milk fatty acid composition

Milk fatty acid composition was strongly modified by LO supplementation, with significant reductions in short-chain fatty acids (SCFA) and some of the medium-chain fatty acids (MCFA) in milk. These fatty acids are synthesized *de novo* in the mammary gland, and their marked decrease in milk from ewes fed linseed oil could be attributed to a dilution effect generated by a greater uptake of long-chain fatty acids (LCFA) in the udder. On the other hand, the presence of some of these LCFA in the mammary gland could inhibit the activity of lipogenic enzymes involved in *de novo* synthesis (Palmquist, 2006).

As already observed by Bodas et al. (2010), the lower levels of saturated fatty acids (SFA) and higher levels of MUFA and PUFA present in milk fat in the LO treatments were the result of the fatty acid composition of the linseed oil and the incomplete biohydrogenation of the dietary PUFA. Manso et al. (2011) observed that the high

levels of linoleic and linolenic acid in linseed oil are manifested by increases in these fatty acids in the milk of LO treated ewes compared with the Control.

In spite of the difficulty of increasing ALA levels in ruminant milk because of the relatively low transfer rate of this FA from diet into milk (Palmquist, 2006), the concentration of ALA in milk fat from diets with linseed oil increased 2.0 (LO), 1.9 (LO-Syn E) and 1.7-fold (LO-Nat E) compared to the Control diet. These increases were similar to those reported in previous experiments with linseed oil (Manso et al., 2011) and extruded linseed (Mele et al., 2011). However, Gomez-Cortes et al. (2009) observed an increase of 5.3-fold in ALA concentration when ewe diets were supplemented with 6% of extruded linseed. The lower ALA concentration in milk reported in this study can be attributed to rumen biohydrogenation that results in lower ALA transference to the mammary gland.

LO supplementation reduced the milk fat percentage of arachidonic acid (C20:4 n-6, AA), as described by Ferlay et al. (2010), suggesting an inhibitory effect of C18:3 n-3 or its metabolites on synthesis or milk secretion of this n-6 FA.

With regard to the very long chain n-3 PUFA, their concentrations were extremely low in all groups and were in line with those reported in ewes supplemented with extruded linseed (Gomez-Cortés et al. 2009) or linseed oil (Bodas et al., 2010).

The decrease of the n-6/n-3 ratio to below 4.0 in milk fat when ewes were supplemented with linseed oil (LO, LO-Syn E and LO-Nat E), can be considered positive from a nutritional point of view (Simopoulos, 2008).

With respect to the intermediaries in the biohydrogenation processes of linoleic and linolenic acid, most increased their levels with the LO diets. Milk *trans* monounsaturated FA increased in diets with LO because of alterations in the rumen metabolism which inhibited the last stages of biohydrogenation. In particular, the proportion of *trans-10* C18:1, an intermediate metabolite of a partial, incomplete and altered ruminal biohydrogenation of linoleic and linolenic acid in milk fat, increased in linseed oil treatments instead of *trans-11* C18:1. *Trans-10* C18:1 is associated with an enrichment of the diet with unsaturated FA, like linseed oil, and is related to increases in the *trans-10*, *cis-12* CLA content of milk fat (Toral et al., 2010 b).

Milk fat concentration of RA increased 2.8, 3.2 and 2.1-fold with LO, LO-Syn E and LO-Nat E supplementation, respectively. The strong correlation between VA and RA calculated in the current research ($r = 0.86$, $P < 0.001$) confirms the substrate-product relationship for Δ^9 -desaturase. RA in ewe milk fat is not only formed by direct isomerization of linoleic acid in the rumen, but also originates mainly from endogenous synthesis from VA via Δ^9 -desaturase in the mammary gland (Bichi et al., 2012). The ALA supplied by the linseed oil diet is a direct precursor of the VA produced in the rumen, and therefore a 4.1, 4.0 and 2.8-fold increase in VA milk fat concentrations from LO, LO-Syn E, LO-Nat E diets, respectively has been observed, which is used for endogenous synthesis of RA in the mammary gland. Our results are in agreement with other studies which reported an increase in VA and RA concentrations in the milk of ewes fed linseed oil (Bodas et al., 2010; Manso et al., 2011) extruded linseed (Gomez-Cortes et al., 2009) and whole linseed (Zhang et al., 2006).

Vitamin E supplementation had a limited effect on milk fatty acid profiles and most of the biohydrogenation intermediates in ewes. Several authors stated that vitamin E supplementation did not affect the proportions of unsaturated dietary fatty acids and most biohydrogenation intermediates in the rumen, suggesting that vitamin E was neither a limiting factor for rumen BH nor a modulator of BH pathways (Chikunya et al., 2004; Zened et al., 2012). In contrast, as discussed above, vitamin E could alter ruminal PUFA biohydrogenation in dairy (Focant et al., 1998; Bell et al., 2006) and beef cattle (Juarez et al., 2011). The mechanism by which α -tocopherol may alter biohydrogenation is unclear, so the modification of rumen microbial populations and/or dynamics leading to FA hydrogenation might be involved (Hou et al., 2013).

Despite the limited effect of vitamin E supplementation on milk fatty acids, there were some statistical differences between fatty acid levels of LO-Syn E and LO-Nat E treatments (Table 3). In agreement with the current study, research conducted *in vitro* on dairy cattle showed that synthetic vitamin E supplementation increased the proportions of *cis*-9, *trans*-11 C18:2 and *trans*-10, *trans*-12 C18:2 in the ruminal fatty acid profile compared with natural vitamin E supplementation, which suggests that differences in CLA percentages were not due to differences in isomerization efficiency (Zened et al., 2012).

6.3. Intramuscular fatty acid composition

In suckling lambs the rumen is not functional, so there is no biohydrogenation of the milk FA before they are absorbed by the intestine. Therefore, the milk FA profile of the lactating dams had a significant effect on the meat fatty acid profile. Because there were no differences in growth rates and fat deposition in lambs during treatment, differences in the intramuscular FA profile could only be due to milk fatty acid composition.

The presence of lower levels of SCFA, MCFA and SFA and higher levels of LCFA and MUFA in suckling lamb intramuscular fat in the LO treatments is explained by differences in milk fatty acid composition. However, in spite of higher PUFA levels in milk from LO diets, no differences were found in total intramuscular PUFA content. The major presence of PUFA in intramuscular fat is due to the greater proportion of phospholipids. As phospholipids are the constituents of cell membranes, their composition is less influenced by diet, because large changes in the FA profile of these membranes would alter their properties and other physiological functions (Juárez et al., 2010).

As reported in the case of milk, *trans* monounsaturated fatty acid levels were more elevated in suckling intramuscular fat from LO treatments. The levels of *trans*-10 C18:1, VA and RA in intramuscular fat increased 3.3, 4.6 and 3.2-fold, respectively with LO supplementation compared with the Control diet. Dietary RA from milk would not be the only source of RA in tissues, as it would also be partly derived from endogenous synthesis from VA by the action of Δ^9 -desaturase in the animal tissue (Raes et al., 2004). Hence, a significant positive correlation was observed between RA and VA levels in intramuscular fat ($r = 0.94$, $P < 0.001$), stronger than in milk ($r = 0.86$, $P < 0.001$).

Ewe diet supplementation with vitamin E did not have any effect on VA and RA content in intramuscular fat. This pattern was similar to that reported by Capper et al. (2007) in plasma from suckling lambs, where a ewe diet was not only supplemented with fish oil but also with vitamin E (500mg/kg). Likewise in lambs, Kasapidou et al. (2012) did not find any significant differences in *trans* C18:1 and RA intramuscular content when the lamb diet was supplemented with vitamin E (500 mg/kg).

As with milk fat, linseed oil supplementation of the ewe diet increased the ALA proportion 1.56 (LO), 1.95 (LO-Syn E) and 1.69-fold (LO-Nat E) in intramuscular fat. The ALA presence in suckling lamb muscle depends on the ALA content in the milk ($r = 0.51$, $P < 0.05$), which, in turn, is related to the dietary composition of their dams. Consistent with the foregoing, Manso et al. (2011) reported a 2.0-fold increase in ALA in intramuscular fat of suckling lambs when their dams had been fed a diet supplemented with linseed oil (3% DM).

Kasapidou et al. (2012) observed that vitamin E supplementation did not affect the ALA content in intramuscular fat in lambs. However, Juarez et al. (2011) reported that the inclusion of high levels of vitamin E in the lamb diet resulted in higher levels of ALA when the diet was supplemented with linseed, which could indicate that vitamin E somehow modifies C18:3 biohydrogenation.

Linseed oil supplementation was shown to increase intramuscular fat levels of long chain n-3 fatty acids in suckling lambs (Manso et al., 2011) and heavy lambs (Demirel et al., 2004). Nevertheless, in the present experiment, linseed oil inclusion in the ewe diet did not produce any increase in long chain n-3 PUFA in the suckling lamb intramuscular fat. The lack of increase in EPA, DPA and DHA levels in LO lambs compared to Control can probably be explained by the higher intramuscular fat content and a consequently higher triglyceride to phospholipid ratio. Since increases in long chain fatty acids take place mainly in the phospholipid rather than in the triglyceride fraction (Jerónimo et al., 2009), the failure of LCFA n-3 to increase in the present study could be related to a lower proportion of phospholipids relative to the triglyceride fraction.

The significant increase in n-3 PUFA, including EPA, DPA and DHA in suckling lamb meat from LO-Syn E treatment could be ascribed mostly to differences in intramuscular fat content rather than to a higher protective effect of synthetic vitamin E against PUFA peroxidation. On the other hand, Kasapidou et al. (2012) reported that dietary vitamin E supplementation did not affect EPA and DHA meat content in lambs.

The levels of C20:3 n-6, C20:4 n-6 and 22:4 n-6 were significantly lower in suckling lambs from treatments with linseed oil (LO, LO-Syn E and LO-Nat E).

Although there were no differences between n-3 PUFA and n-6 PUFA levels in intramuscular fat of suckling lambs from Control ewes and ewes fed linseed oil, the n6/n3 ratio was considerably lower in lambs from LO, LO-Syn E and LO-Nat E treatments, and their values (LO: 3.65, LO-Syn E: 3.31 and LO-Nat E: 3.40) remained below 4, the nutritionally recommended threshold (Simopoulos et al., 2008).

With reference to vitamin E supplemented groups, the very long chain PUFA were only increased when synthetic vitamin E was provided. Since these differences occurred despite the lack of difference in milk fatty acid composition between types of vitamin E, this result is probably related to the different intramuscular fat content of natural and synthetic vitamin E supplemented groups with the resulting variation in the triglycerides to phospholipid ratio, as discussed above.

6.4. Vitamin E, colour and lipid oxidation

Total vitamin E levels of ewe milk did not differ significantly between Control and LO treatment, probably due to the fact that differences in total vitamin E between these two diets were insufficient to affect the amounts in the milk. Even so, Capper et al. (2005) observed a decrease in vitamin E content in milk fat when the ewe diet was supplemented with fish oil. This could be because the animal's need for vitamin E as a cellular antioxidant, is positively correlated with the oxidative challenge faced by the animal as a result of fatty acid supply, therefore causing milk concentration of vitamin E to fall. The increase in milk vitamin E concentrations conferred by supranutritional vitamin E supplementation within the current study agrees with the results published by Capper et al. (2005).

Data from the present study showed that concentrations of vitamin E in milk were 2.73 times greater for ewes fed the natural vitamin E (LO-Nat E treatment) than for ewes fed the synthetic vitamin E (LO-Syn E treatment). This could be owing to the fact that the RRR form (natural vitamin E) is preferentially taken up or transferred from plasma to milk (Vagni et al., 2011). In this sense, Meglia et al. (2006) and Weiss et al. (2009) observed a 1.24 and 1.43-fold greater concentration of vitamin E, respectively, in milk from cows fed with RRR supplement (natural vitamin E) compared to cows fed the all-rac supplement (synthetic vitamin E).

As expected, the vitamin E concentration of suckling lamb meat mirrored maternal milk vitamin E concentrations, with the highest amounts being recorded in vitamin E supplemented ewes (LO-Syn E and LO-Nat E). Vitamin E concentrations in meat from linseed oil supplemented ewe diets and the Control diet were statistically the same. Muscle vitamin E levels were positively correlated with those in the maternal milk ($r = 0.75$, $P < 0.001$), a finding in agreement with Kasapidou et al. (2012) who also showed that muscle vitamin E levels increased in line with dietary vitamin E levels.

The vitamin E content and fatty acid composition of meat affect its colour stability (Lopez-Bote et al., 2001; Kasapidou et al., 2012). It is advisable to evaluate meat colour in terms of lightness (L^*) and hue angle (H^*), because these are the real parameters of colour that human evaluators are able to understand (Ripoll et al., 2008).

Lightness from suckling lamb muscle increased until day 9 of storage (Fig. 1a), according to several authors who reported increases in L^* over time in suckling lamb meat (Osorio et al., 2008). In agreement with Vieira et al. (2012), there were no differences in colour measurements of suckling lamb meat between LO and Control treatments. The increase of α -tocopherol in lamb muscle because of ewe dietary vitamin E supplementation (LO-Syn E and LO-NAT E) could significantly lower L^* values in meat (Ripoll et al., 2011). These authors suggested that vitamin E should modify lightness by means of water holding capacity, thus preventing high short-term lightness values due to superficial moisture. Meat oxidation reduces the water-holding capacity between muscle myofibrils, which increases juice loss from the meat and as a result meat lightness (Elisabeth and Steven, 2005). All treatments in the present study produced meat with L^* values greater than 34, the acceptable threshold for fresh lamb meat colour (Khlijji et al., 2010). Lopez-Bote et al. (2001) proposed 3.2 mg/kg as the concentration of vitamin E required in light lambs to have a significant impact on L^* stability. However, our results showed that with a lower concentration of vitamin E in suckling lamb muscle (LO-Syn E: 1.3 and LO-Nat E: 1.53 mg vitamin E/kg muscle) colour parameters could be positively affected.

Like the L^* values, H^* values were also affected by ewe dietary vitamin E and time in storage (Fig. 1d). The inclusion of linseed oil in ewe diets (LO) did not have any effect on the H^* value of their suckling lambs, as observed by Juárez et al. (2011) in beef fed linseed. The higher vitamin E content in suckling lamb muscle could also

reduce H* values, compared with lambs from treatments without additional vitamin E. H* values in LO+Syn E and LO+Nat E remained below 59, the acceptability limit for lamb meat proposed by Ripoll et al. (2011) throughout storage display.

As expected, the oxidative processes in muscle (TBARS) were significantly affected by dietary treatment ($P < 0.001$) and storage display ($P < 0.001$). The lack of difference in TBARS values at day 0 (non-aged), can be explained by taking into account that compounds that contribute to oxidised flavour development are mainly formed during storage (Ahn et al., 2007). Nevertheless, at days 5 and 12 of storage, LO treated lamb meat registered higher TBARS values than the Control samples. Increasing the ALA content in meat (LO: 0.97 vs. Control: 0.62; $P < 0.001$) has been shown to result in higher levels of oxidation due to the higher susceptibility of this n-3 PUFA (Wood et al., 2004).

During storage LO-Syn E and LO-Nat E treatments kept oxidized lamb meat far below the limiting acceptability threshold (1 mg MDA/kg muscle; Ripoll et al., 2011), demonstrating that vitamin E counteracts fatty acid oxidation and consequently increases the shelf life of meat. The negative correlation between TBARS values at 5 and 9 days of storage and vitamin E concentrations in muscle ($r = -0.44$, $P < 0.05$; $r = 0.56$, $P < 0.05$) support this statement. Lauzurica et al. (2005) maintained TBARS values around 0.5 at 12 days in the meat of lambs fed on a diet enriched with 500 mg of vitamin E/kg. At day 9 of storage, Lopez-Bote et al. (2001) reported TBARS values of 0.45 mg MDA/kg muscle in lambs fed on a diet enriched with 1000 mg of vitamin E/kg.

7. Conclusions

To conclude, it can be said that the use of linseed oil as a supplement in lactating ewe diets modified the milk fat FA profile, and consequently the meat FA profile of their suckling lambs, by increasing the content of healthy FA in meat, like VA, RA and ALA. This in turn reduced susceptibility to oxidation without affecting animal performance. Ewe diet supplementation with natural or synthetic vitamin E only had a limited effect on animal performance, milk and fatty acid profiles, however it clearly affected the lipids and colour stability of suckling lamb meat from ewes fed with linseed oil.

8. References

- Ahn, J., Grün, I.U., Mustapha, A., 2007. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiology* 24, 7-14.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 15th ed. AOAC, Arlington (United States of America).
- AOAC, 2003. Official Method of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 17th Ed. AOAC International, Gaithersburg (United States of America)
- Bauman, D.E., Griinari, J.M., 2003. Nutritional Regulation of Milk Fat Synthesis. *Annual Review of Nutrition* 23, 203-227.
- Bell, J.A., Griinari, J.M., Kennelly, J.J., 2006. Effect of Safflower Oil, Flaxseed Oil, Monensin, and Vitamin E on Concentration of Conjugated Linoleic Acid in Bovine Milk Fat. *Journal of Dairy Science* 89, 733-748.
- Bichi, E. Toral, P.G. Hervás, G., Frutos, P., Gómez-Cortés, P., Juárez, M., De la Fuente, M.A., 2012. Inhibition of Δ^9 -desaturase activity with sterculic acid: effect on the endogenous synthesis of *cis-9 18:1* and *cis-9 trans-11 18:2* in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 95, 5242-5252.
- Bodas, R., Manso, T., Mantecon, A.R., Juarez, M., De la Fuente, M.A., Gomez-Cortes, 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.
- 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.
- Casals, R., Caja, G., Pol, M.V., Such, X., Albanell, E., Gargouri, A., Casellas, J., 2006. Response of lactating dairy ewes to various levels of dietary calcium soaps of fatty acids. *Animal Feed Science and Technology* 131, 312-332.
- Chikunya, S., Demirel, G., Enser, M., Wood, J.D., Wilkinson, R.G., Sinclair, L.A., 2004. Biohydrogenation of dietary n-3 PUFA and stability of ingested vitamin E in the rumen, and their effects on microbial activity in sheep. *British Journal of Nutrition* 91, 539-550.
- 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.
- 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.
- Elisabeth, H.L., Steven, M.L., 2005. Mechanisms of water holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science* 71, 194-204.
- Ferlay, A., Martin, B., Lerch, S., Gobert, M., Pradel, P., Chilliard, Y., 2010. Effects of supplementation of maize silage diets with extruded linseed, vitamin E and plant extracts rich in polyphenols, and morning v. evening milking on milk fatty acid profiles in Holstein and Montbeliarde cows. *Animal* 4, 627-640.
- FIL-IDF, 1999. Milk Fat. Preparation of fatty acid methyl esters. International Standard ISO 182. International Dairy Federation, Brussels (Belgium).
- Focant, M., Mignolet, E., Marique, M., Clabots, F., Breyne, T., Dalemans, D., Larondelle, Y., 1998. The Effect of Vitamin E Supplementation of Cow Diets Containing Rapeseed and Linseed on the Prevention of Milk Fat Oxidation. *Journal of Dairy Science* 81, 1095-1101.
- Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G.H., 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226, 497-509.
- Gomez-Cortes, P., Bach, A., Luna, P., Juarez, M., de la Fuente, M.A., 2009. 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., Frutos, P., Mantecón, A.R., Juárez, M., de la Fuente, M.A., Hervás, G., 2008. Milk Production, Conjugated Linoleic Acid Content, and In Vitro Ruminal Fermentation in Response to High Levels of Soybean Oil in Dairy Ewe Diet. *Journal of Dairy Science* 91, 1560-1569.
- Hou, J., Wang, F., Wang, Y., Liu, F., 2013. Effects of vitamin E on the concentration of conjugated linoleic acids and accumulation of intermediates of ruminal biohydrogenation in vitro. *Small Ruminant Research* 111, 63-70.
- Joy, M., Ripoll, G., Molino, F., Dervishi, E., Alvarez-Rodriguez, J., 2012. Influence of the type of forage supplied to ewes in pre- and post-partum periods on the meat fatty acids of suckling lambs. *Meat Science* 90, 775-782.
- Juárez, M., Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Aldai, N., Basarab, J.A., Baron, V.S., McAllister, T.A., 2011. Effects of vitamin E and flaxseed on rumen-derived fatty acid intermediates in beef intramuscular fat. *Meat Science* 88, 434-440.
- Juarez, M., Horcada, A., Alcalde, M.J., Aldai, N., Polvillo, O., Valera, M., Molina, A., 2010. Fatty acid composition of lamb fat depots as an origin discriminator. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8, 976-980.
- Kasapidou, E., Wood, J.D., Richardson, R.I., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Enser, M., 2012. Effect of vitamin E supplementation and diet on fatty acid composition and on meat colour and lipid oxidation of lamb leg steaks displayed in modified atmosphere packs. *Meat Science* 90, 908-916.
- Khlijji, S., Van de Ven, R., Lamb, T.A., Lanza, M., Hopkins, D.L., 2010. Relationship between consumer ranking of lamb colour and objective measures of colour. *Meat Science* 85, 224-229.
- Kittessa, S.M., Peake, D., bencinni, R., Williams, A.J., 2003. Fish oil metabolim in ruminants III. Transfer of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) from tuna oil sheep's milk. *Animal Feed Science and Technology* 108, 1-14.
- Lauridsen, C., Engel, H., Craig, A.M., Traber, M.G., 2002. Relative bioactivity of dietary RRR- and all-rac-alpha-tocopheryl acetates in swine assessed with deuterium-labeled vitamin E. *Journal of Animal Science* 80, 702-707.
- Lauzurica, S., de la Fuente, J., Díaz, M.T., Álvarez, I., Pérez, C., Cañeque, V., 2005. Effect of dietary supplementation of vitamin E on characteristics of lamb meat packed under modified atmosphere. *Meat Science* 70, 639-646.
- Lock, A.L., Kraft, J., Rice, B.H., Bauman, D.E. 2009. Biosynthesis and biological activity of rumenic acid: a natural CLA isomer. In: *Trans Fatty Acids in Human Nutrition* (F. Destailats, J.L. Sébédio, F. Dionisi and J.M. Chardigny, eds.). pp. 195-230. The Oily Press, Brigwater (United Kingdom).
- Lopez-Bote, C.J., Daza, A., Soares, M., Berges, E., 2001. Dose-response effect of dietary vitamin E concentration on meat quality characteristics in light-weight lambs. *Animal Science* 73, 451-457.
- Manso, T., Bodas, R., Vieira, C., Mantecon, A.R., Castro, T., 2011. Feeding vegetable oils to lactating ewes modifies the fatty acid profile of suckling lambs. *Animal* 5, 1659-1667.
- Maraschiello, C., Sarraga, C., Garcia Reguiero, J.A., 1999. Glucation peroxidase activity, TBARS, and α -tocopherol in meat from chickens fed diets. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 47, 867-872.
- 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.
- Mele, M., Contarini, G., Cercaci, L., Serra, A., Buccioni, A., Povolò, M., Conte, G., Funaro, A., Banni, S., Lercker, G., Secchiari, P., 2011. Enrichment of Pecorino cheese with conjugated linoleic acid by feeding dairy ewes with extruded linseed: Effect on fatty acid and triglycerides composition and on oxidative stability. *International Dairy Journal* 21, 365-372.
- Nudda, A., Palmquist, D.L., Battacone, G., Fancellu, S., Rassu, S.P.G., Pulina, G., 2008. Relationships between the contents of vaccenic acid, CLA and n-3 fatty acids of goat milk and the muscle of their suckling kids. *Livestock Science* 118, 195-203.
- Osorio, M.T., Zumalacarregui, J.M., Cabeza, E.A., Figueira, A., Mateo, J., 2008. Effect of rearing system on some meat quality traits and volatile compounds of suckling lamb meat. *Small Ruminant Research* 78, 1-12.
- Palmquist, D.L. 2006. Milk fat: Origin of fatty acids and influence of nutritional factors thereon. In: *Advanced Dairy Chemistry, Vol. 2, Lipids*. (P.F. Fox and P.L.H. McSweeney, eds.). pp 43-92. Springer, New York (United States of America).

- 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.
- 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.
- Raes, K., De Smet, S., Demeyer, D., 2004. Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Animal Feed Science and Technology* 113, 199-221.
- Ripoll, G., Joy, M., Muñoz, F., 2011. Use of dietary vitamin E and selenium (Se) to increase the shelf life of modified atmosphere packaged light lamb meat. *Meat Science* 87, 88-93.
- Ripoll, G., Joy, M., Muñoz, F., Albertí, P., 2008. Meat and fat colour as a tool to trace grass-feeding systems in light lamb production. *Meat Science* 80, 239-248.
- 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.
- Sampels, S., Pickova, J., Wiklund, E., 2004. Fatty acids, antioxidants and oxidation stability of processed reindeer meat. *Meat Science* 67, 523-532.
- 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., Griinari, J.M., 2007. Role of biohydrogenation intermediates in milk fat depression. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 799-816.
- Simopoulos, A.P., 2008. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine* 233, 674-688.
- Toral, P.G., Hervás, G., Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Juárez, M., de la Fuente, M.A., 2010 a. 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.
- Toral, P.G., Frutos, P., Hervas, G., Gomez-Cortes, P., Juárez, M., de la Fuente, M.A., 2010 b. 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.
- Vagni, S., Saccone, F., Pinotti, L., Baldi, A., 2011. Vitamin E Bioavailability: Past and Present Insights. *Food and Nutrition Sciences* 2, 1088-1096.
- Vieira, C., Fernández-Diez, A., Mateo, J., Bodas, R., Soto, S., Manso, T., 2012. Effects of addition of different vegetable oils to lactating dairy ewes' diet on meat quality characteristics of suckling lambs reared on the ewes' milk. *Meat Science* 91, 277-283.
- Weiss, W.P., Hogan, J.S., Wyatt, D.J., 2009. Relative bioavailability 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.
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I., Wittington, F.M., 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science* 78, 343-358.
- Wood, J.D., Richardson, R.I., Nute, G.R., Fisher, A.V., Campo, M.M., Kasapidou, E., Sheard, P.R., Enser, M., 2004. Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science* 66, 21-32.
- Zened, A., Troegeler-Meynadier, A., Najar, 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.
- Zhang, R.H., Mustafa, A.F., Zhao, X., 2006. Effects of feeding oilseeds rich in linoleic and linolenic fatty acids to lactating ewes on cheese yield and on fatty acid composition of milk and cheese. *Animal Feed Science and Technology* 127, 220-233.

VII. *Discusión General*

El objetivo general de la presente Tesis Doctoral ha sido desarrollar estrategias de alimentación del ganado ovino de raza Churra en lactación basadas en la utilización de distintas fuentes de grasa disponibles en el mercado dirigidas a mejorar los rendimientos productivos, el perfil de ácidos grasos de la leche y, como consecuencia, la composición de la grasa de la carne de lechazo para, así, satisfacer las demandas de los consumidores en relación con la salud humana, aumentar el valor de los productos y mejorar la rentabilidad de las explotaciones de ganado ovino.

Si bien en las distintas pruebas experimentales que constituyen esta Tesis Doctoral, se han analizado y discutido de forma individual los resultados obtenidos, en el presente apartado se integran de forma resumida y concisa los principales hallazgos obtenidos, así como las posibles relaciones entre ellos.

Las grasas pueden ser incorporadas en la ración de las ovejas de distintas formas y su efecto sobre los rendimientos productivos y la calidad de la grasa de la leche y de la carne de los lechazos producidos varía con el tipo de lípido suplementado, tal y como se puede observar al comparar los resultados obtenidos en las distintas pruebas realizadas. En este sentido, una misma fuente de grasa como es el aceite de linaza, incorporado en forma de semilla extrusionada o como aceite libre, puede presentar diferente grado de protección de los ácidos grasos frente a la biohidrogenación ruminal e influir en la composición de la grasa de la leche y de la carne de los lechazos como veremos más adelante.

1. Rendimientos productivos

La producción de leche de las ovejas en inicio de lactación no se vio afectada significativamente por la inclusión en las raciones experimentales de las fuentes de grasa estudiadas: CSFA de aceite de oliva (OLI), CSFA de aceite de pescado (FO), semilla extrusionada de lino (LIN) y aceite de linaza (LO). Resultados similares han sido observados previamente al comparar distintos aceites vegetales en raciones de ovejas en inicio y mitad de lactación (Bodas et al., 2010; Manso et al., 2011). Es preciso señalar que en las pruebas 1 y 2 las dietas ensayadas fueron isonérgicas e isoproteicas, presentaron el mismo nivel de grasa y todos los animales consumieron la misma cantidad de materia seca, por lo que no eran de esperar cambios en la producción de leche. En la prueba 3 tampoco se observaron diferencias significativas en la producción

de leche al comparar raciones con y sin aceite de linaza, sin embargo, la producción fue numéricamente mayor en los tratamientos con aceite de linaza a pesar de que la ingestión fue la misma en ambos tratamientos. Probablemente, la energía no fue limitante para la producción de leche en la ración sin grasa añadida y podría explicar los resultados obtenidos. Estos resultados están de acuerdo con otros trabajos en los que la producción de leche en ovejas en inicio (Casals et al., 2006) y mitad de lactación (Toral et al., 2010 b) tampoco se vio afectada al incluir una fuente de grasa adicional en la ración.

El tipo de grasa añadida no afectó significativamente al contenido en proteína de la leche. Sin embargo, Pulina et al. (2006) han señalado que existe una correlación negativa en las ovejas lecheras entre la cantidad de grasa consumida con la ración y el contenido en proteína de la leche. Estos cambios han sido atribuidos a un efecto de dilución como consecuencia de diferencias en la producción de leche, más que a reducciones en la disponibilidad de aminoácidos en la glándula mamaria. El hecho de que no existieran diferencias significativas en la producción de leche con las fuentes de grasa utilizadas en este trabajo podría explicar nuestros resultados. Así, al incluir vitamina E en la ración de las ovejas con aceite de linaza (LO-Syn E y LO-Nat E) aumento numéricamente la producción de leche y el contenido en proteína disminuyó.

El contenido en grasa de la leche de las ovejas se vio reducido al incorporar determinadas fuentes de grasa en las raciones. Puesto que la cantidad de grasa añadida, los componentes de la ración, la producción de leche, la fase de lactación y el estado nutricional de las ovejas se mantuvieron constantes en los distintos tratamientos experimentales, el efecto sobre el contenido de grasa podría atribuirse únicamente al tipo de grasa añadida.

Estudios previos han sugerido que las ovejas son menos propensas al síndrome de baja grasa en la leche que las vacas, aun cuando las dietas son ricas en concentrado y contienen cantidades relativamente altas de aceites de origen vegetal. La inclusión de OLI y FO en la ración de ovejas al inicio de lactación (prueba 1) resultó en un descenso significativo del contenido de grasa de la leche con reducciones del 17% y 35% respectivamente respecto a un grupo Control con el mismo nivel de jabón cálcico de aceite de palma.

En este trabajo, los efectos inhibitorios que las fuentes de grasa de origen marino (FO) ejercen sobre la secreción de grasa en la leche no se han asociado con aumentos en el contenido en *trans-10, cis-12* C18:2 de la grasa de la leche, el único intermediario de la biohidrogenación que ha demostrado tener un efecto antiadipogénico en el ganado ovino (Hussein et al., 2013). De hecho, el porcentaje de este FA en los tratamientos OLI y FO fue despreciable y no se observaron diferencias significativas entre tratamientos. Los niveles de otros ácidos grasos como el *trans-10* C18:1 y *trans-9 cis-11* C18:2 que también se han asociado al síndrome de baja grasa en la leche (Shingfield et al., 2010), fueron bajos y los aumentos registrados no permiten justificar su papel como inhibidores de la síntesis de grasa en la leche. De hecho, los cambios en estos ácidos grasos no estuvieron correlacionados con la producción o el contenido en grasa de la leche. Estos resultados están de acuerdo con otros trabajos (Gómez-Cortés et al., 2008) en los que dietas de ovejas en lactación suplementadas con fuentes de grasa altamente insaturadas provocaron aumentos en el contenido de *trans-10* C18:1 y *trans-10, cis-12* C18:2 sin que ello repercutiera negativamente sobre el contenido en grasa de la leche. Es probable que otros mecanismos derivados de cambios más globales en el metabolismo lipídico pudieran estar implicados en la reducción de la grasa de la leche.

En este sentido, distintos autores han sugerido un considerable efecto de la fluidez de la grasa de la leche sobre la secreción de la misma en la glándula mamaria (Shingfield et al., 2006; Gama et al., 2008), ya que debe permanecer en estado líquido a la temperatura fisiológica. La incorporación del ácido oleico (*cis-9* C18:1) y de ácidos grasos de cadena corta (C4:0 - C10:0) en los triglicéridos de los glóbulos de grasa como medio para asegurar la fluidez de la grasa de la leche a la temperatura corporal podría ser una de las razones que expliquen las reducciones en la grasa de la leche con OLI y FO. El efecto inhibitorio de las grasas marinas sobre la saturación de los *trans* C18:1 a nivel ruminal, reduciendo por tanto la disponibilidad de C18:0 para la síntesis endógena en la glándula mamaria de ácido oleico, podría afectar negativamente a la fluidez de la grasa de la leche. Mas aún, el gran aumento de VA observado en los tratamientos en los que se ha visto reducido el contenido en grasa de la leche (OLI, FO y LIN), con un punto de fusión más alto que su equivalente *cis*-isomero, podría haber contribuido, junto con la reducción significativa en el contenido en *cis-9* C18:1 observado en los tratamientos FO y LIN, a reducir la fluidez de la grasa de la leche y por lo tanto su secreción.

El tratamiento FO aumentó el contenido de FA de cadena corta y media en la leche (< C16:0) procedentes de la síntesis *de novo* en la glándula mamaria y con bajos puntos de fusión. Este hecho podría confirmar el papel de la fluidez de la grasa de la leche en su secreción y sugiere la puesta en marcha de mecanismos mediante los cuales la glándula mamaria trata de adaptar el perfil de FA a la fluidez necesaria en la grasa para su secreción. Asimismo los bajos niveles de isómeros *trans* con puntos de fusión altos (*trans-10 C18:1*, *trans-10*, *cis-12 C18:2* y *trans-9 cis-11 C18:2*) generalmente asociados a la inhibición de la lipogénesis en la glándula mamaria, también podrían contribuir al mantenimiento de la fluidez de la grasa.

El aumento numérico de la producción de grasa de la leche observado en la prueba 3 al suplementar la ración con aceite de linaza (LO), podría ser debido a que las raciones no fueron isoenergéticas. Sin embargo este aumento no llegó a ser significativo probablemente debido a lo anteriormente expuesto, a que hubo un descenso significativo en los ácidos grasos de cadena corta en la leche de las ovejas del tratamiento LO, a un descenso en el contenido en *cis-9 18:1* y a un aumento significativo de los isómeros *trans C18:1* con mayor punto de fusión. Sin embargo, se observó un aumento significativo en la producción y contenido de grasa de la leche de las ovejas cuya ración fue suplementada con aceite de linaza en combinación con vitamina E (LO-Syn E y LO-Nat E), sin observarse diferencias entre el tipo de vitamina E suplementada, natural o sintética.

Algunos trabajos han señalado que la vitamina E puede jugar un importante papel en el cambio que se produce al suplementar raciones ricas en ácidos grasos poliinsaturados, sobre las rutas de biohidrogenación en el rumen hacia la formación de *trans-10 C18:1* y, por lo tanto, sobre el consiguiente síndrome de baja grasa en la leche (Pottier et al., 2006). En la prueba 3 se observó que, con las dietas que contenían aceite de linaza y vitamina E (LO-Syn E y LO-Nat E), aumentaba la producción de grasa respecto a una ración sin vitamina E, sin que el contenido en *trans-10 C18:1* se viera reducido en la grasa de la leche. Bell et al. (2006) sugirieron que 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, manteniendo aumentos en la leche de *trans-10 C18:1* y *trans-10*, *cis-12 C18:2* característicos de la suplementación con aceites vegetales altamente insaturados. Esta ausencia de efecto de la vitamina E sobre los niveles de *trans-10 C18:1* y *trans-10*, *cis-12 C18:2* de la grasa de la leche, sugiere

que otros mecanismos de acción de la vitamina E para inhibir el MFD diferente de los cambios en la rutas de biohidrogenación deberían ser investigados.

La producción y composición de la leche es un factor determinante del crecimiento de los corderos lactantes. Gargouri et al. (2006) sugirió que las diferencias en la ingestión de proteína son decisivas en el crecimiento de los corderos lactantes. Por lo tanto, teniendo en cuenta el hecho de que los corderos de los distintos tratamientos experimentales se alimentaron exclusivamente de leche materna, que no hubo diferencias significativas ni en la producción ni en el contenido en proteína de la leche y que en ningún caso la cantidad de leche producida fue limitante para el crecimiento, podría explicar la ausencia de diferencias significativas en el peso y rendimiento a la canal de los corderos.

2. Perfil de ácidos grasos de la leche

Estudios previos realizados en rumiantes en lactación (ver capítulo II, Revisión bibliográfica) han señalado que la suplementación de la dieta con fuentes de grasa altamente insaturadas pueden ser una buena estrategia para aumentar el contenido en ácidos grasos saludables de la grasa de la leche, tales como el ácido vacénico (VA), ácido ruménico (RA) y ácidos grasos poliinsaturados n-3 (PUFA n-3). Sin embargo, el efecto de las grasas sobre la composición de la grasa de la leche depende de su perfil lipídico y de la forma en la que se incorporan a las raciones (aceites libres, semillas enteras, semillas procesadas o protegidas de los procesos de biohidrogenación a nivel ruminal).

2.1. Ácidos grasos saturados y *cis*-monoinsaturados

La suplementación de la dieta de las ovejas con grasas ricas en ácidos grasos poliinsaturados, ya sea de origen vegetal (OLI, LIN, LO) o marina (FO), provocaron una disminución en el contenido de C16:0 en la grasa de la leche, cuyo origen se debe en parte a la dieta y en parte a la síntesis *de novo* en la glándula mamaria. Esta disminución podría justificarse atendiendo al efecto de dilución provocado por la entrada en la glándula mamaria de ácidos grasos de 18 átomos de carbono procedentes tanto de las dietas experimentales como de los intermediarios de la biohidrogenación ruminal de los PUFA de la dieta, o al potente efecto inhibitorio que estos mismos ácidos

grasos de cadena larga pudieran ejercer sobre la actividad de las enzimas lipogénicas involucradas en la síntesis de C16:0 *de novo* en la glándula mamaria (Palmquist, 2006).

El contenido de ácido esteárico en la grasa láctea disminuyó drásticamente con la inclusión de CSFA de aceite de pescado en la ración de las ovejas (FO) comparado con el resto de los tratamientos experimentales. Estos resultados se pueden explicar por el efecto inhibitorio que sobre la conversión de ácido vacénico a esteárico a nivel ruminal ejercen las fuentes de grasa de origen marino. Experimentos *in vitro* (AbuGhazaleh y Jenkins, 2004) han atribuido este papel inhibitorio al DHA (C22:6 n-3), el PUFA n-3 cuantitativamente más importante en los lípidos de origen marino (ver prueba 1). La presencia de altos niveles de C18:0 en la grasa de la leche del tratamiento LIN es el resultado de la completa biohidrogenación de los C18 PUFA de la dieta, principalmente ALA, debido a la liberación gradual del aceite de la semilla que permite una reducción más lenta pero más completa de los ácidos grasos insaturados que cuando se utiliza aceite de linaza (LO).

Respecto al ácido oleico (*cis-9* C18:1), la ausencia de diferencias significativas entre los tratamientos con jabón cálcico de aceite de palma y OLI, a pesar del mayor contenido en *cis-9* C18:1 del CSFA de aceite de oliva, podría justificarse atendiendo a la abundancia de C18:0 en el CSFA de aceite de palma (40,7%) que tras ser absorbido en el tracto digestivo se podría incorporar a la glándula mamaria y ser desaturado a *cis-9* C18:1 por la acción de la Δ^9 -desaturasa (Bichi et al., 2012). Además, el *cis-9* C18:1 es susceptible de ser isomerizado en el rumen dando lugar a una gran variedad de *trans* MUFA (Gómez-Cortés et al., 2008).

2.2. Ácidos grasos intermediarios en los procesos de biohidrogenación

La inclusión en la ración de ovejas en inicio de lactación de las distintas fuentes de grasa estudiadas lleva asociada cambios en la leche de la concentración de los distintos ácidos grasos intermediarios de los procesos de biohidrogenación ruminal de los PUFA (ver pruebas 1, 2 y 3).

El ácido vacénico (*trans-11* C18:1) es el isómero *trans* C18:1 más abundante en la grasa de la leche de oveja. Su contenido en la grasa de la leche de todas las ovejas cuya dieta fue suplementada con fuentes de grasa insaturadas aumento significativamente respecto al Control con jabón cálcico de aceite de palma (Figura 1). Los mayores

contenidos de VA se observaron al suplementar la dieta de las ovejas con CSFA de aceite de pescado (FO), que se llegó a multiplicar por 7. Estos resultados evidencian que los aceites de pescado inhiben el último paso de la biohidrogenación del ácido linoleico y por lo tanto provocan una acumulación del VA en el rumen. Los resultados obtenidos con LIN LO y OLI ponen de manifiesto que el VA es uno de los productos de la biohidrogenación ruminal del ácido linoleico, linolénico y oleico.

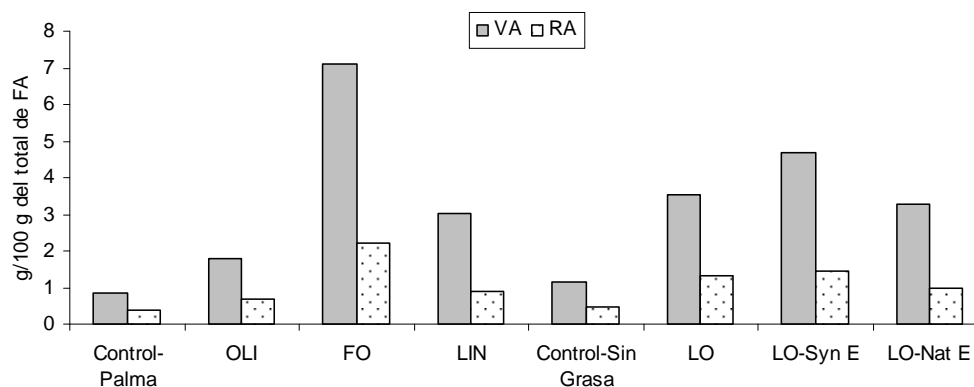


Figura 1. Contenido medio en la leche de VA y RA en la leche de las ovejas de los distintos tratamientos experimentales.

Los mayores niveles de *trans-10* C18:1 en la grasa de la leche, un metabolito de la biohidrogenación parcial, incompleta y alterada de los ácidos linoleico y linolénico en el rumen, los encontramos en los tratamientos con aceite de linaza (LO). Este ácido graso ha sido relacionado con alteraciones a nivel ruminal al suplementar la dieta con ácidos grasos insaturados y con aumentos en el contenido de *trans-10 cis-12* C18:2. Los bajos contenidos de *trans-10* C18:1 en la grasa de la leche de los tratamientos OLI, FO y LIN podrían atribuirse en parte a la protección de las grasas y a menores alteraciones del medio ambiente ruminal.

En relación con los isómeros del CLA, el *cis-9, trans-11* C18:2 (RA, ácido ruménico) de la grasa de la leche fue el más afectado por la inclusión de distintas fuentes de grasa en la ración de las ovejas y reflejó los cambios observados en el contenido en *trans-11* C18:1 (Figura 1), su precursor para la síntesis endógena de RA en la glándula mamaria vía Δ^9 -desaturasa (Bichi et al., 2012). Este isómero, asociado con efectos beneficiosos para la salud humana, es el mayor isómero del CLA en la grasa de la leche y representa más del 80% del total del CLA. El contenido de RA en la leche del tratamiento FO presentó el mayor valor (2,21%) debido probablemente a la

acumulación de VA a nivel ruminal que ha sido señalada anteriormente, así como a la mayor actividad desaturasa con las dietas FO.

La suplementación de la dieta con aceite de linaza (LO, LO-Syn E y LO-Nat E) mejoró los niveles de RA comparado con los niveles encontrados con el tratamiento con semilla extrusionada de lino (LIN). Estas diferencias se han atribuido a la forma en la que se suplementaron las grasas, ya que en la semilla extrusionada de lino, el aceite está disponible de manera más gradual que cuando se añade de forma libre, lo que conlleva una reducción más eficiente de los PUFA y, por lo tanto, un contenido menor de ácidos grasos intermediarios de los procesos de biohidrogenación del ALA, como el RA.

Distintos trabajos llevados a cabo en ganado bovino han señalado que la vitamina E podría alterar la biohidrogenación ruminal de los ácidos grasos, tal y como se ha expuesto previamente. Sin embargo, en este trabajo la suplementación de la dieta de las ovejas con vitamina E no provocó grandes cambios en el perfil lipídico de la grasa de la leche. Estos resultados están de acuerdo con Chikunya et al. (2004) y Zened et al., (2012) que han señalado que la suplementación con vitamina E de la dieta no afecta ni limita la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados en el rumen.

La dieta suplementada con vitamina E sintética (LO-Syn E) presentó niveles más altos de *cis-9, trans-11* C18:2 y *trans-10, cis-12* C18:2 que la suplementada con vitamina E natural. Zened et al. (2012) han sugerido que las diferencias en el porcentaje de estos ácidos grasos no son debidas a diferencias en la eficiencia de isomerización del ácido linoleico a nivel ruminal, por lo que otros mecanismos deberían ser investigados.

2.3. PUFA n-3

La suplementación de la dieta con una fuente de grasa rica en ácido α -linolénico (ALA), como la semilla extrusionada de lino (LIN) o el aceite de linaza (LO), multiplicó por 3 y 2 respectivamente la concentración de ALA en la grasa de la leche (Figura 2), a pesar de que su índice de transferencia de la dieta a la leche es muy bajo (Palmquist, 2006). El ALA suministrado en los tratamientos LIN y LO es un precursor directo del VA producido en el rumen y presente en la leche, ya que es usado para la síntesis endógena de RA en la glándula mamaria. Estos resultados están de acuerdo con los aumentos observados en VA y RA en la leche al suplementar la dieta de las ovejas

con aceite de linaza (Manso et al., 2011), semilla extrusionada de lino (Gómez-Cortés et al., 2009b) y semilla entera de lino (Zhang et al., 2006).

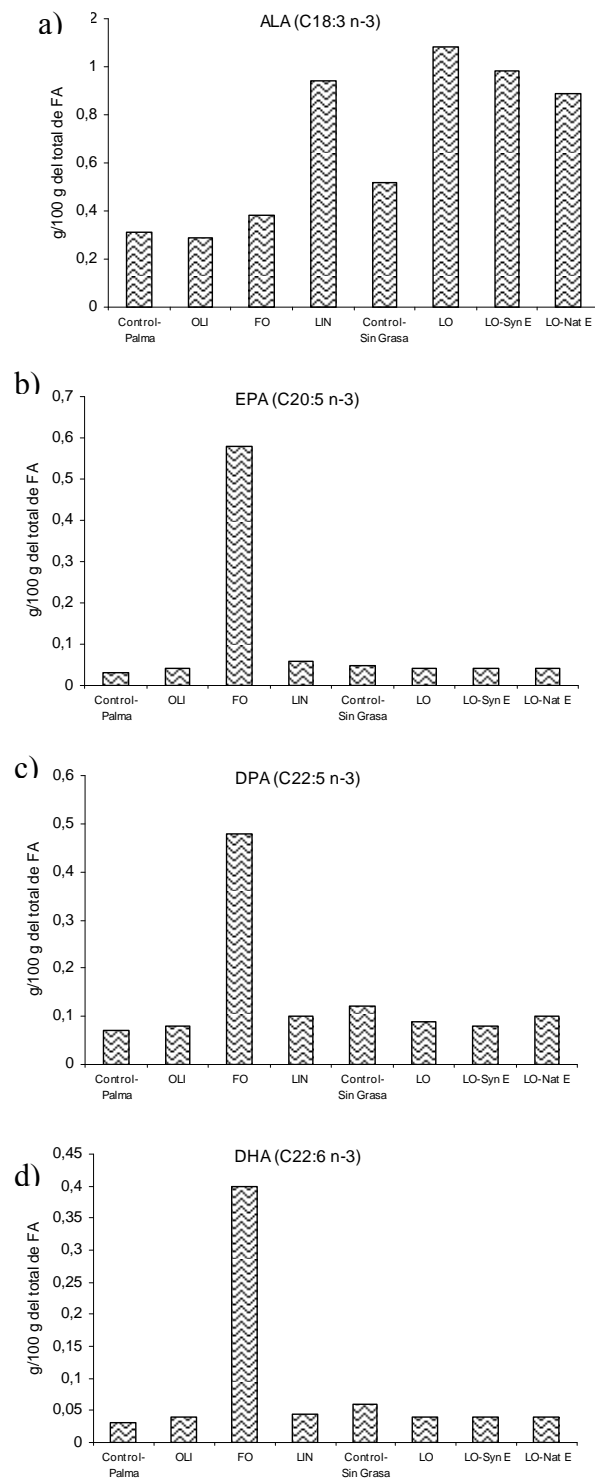


Figura 2. Contenido medio en la leche de ALA (a), EPA (b), DPA (c) y DHA (d) en la leche de las ovejas de los distintos tratamientos experimentales.

Para aumentar los niveles de PUFA n-3, como el EPA (C20:5), DPA (C22:5) y DHA (C22:6) en la leche de oveja, el aceite de pescado es el suplemento lipídico idóneo en la dieta de las ovejas (Figura 2). La introducción de este tipo de fuente de grasa en forma protegida (CSFA de aceite de pescado) en la dieta de las ovejas en lactación al nivel del 3% (FO) permitió enriquecer la leche en PUFA n-3 y evitar los efectos metabólicos indeseables como la formación de ácidos grasos *trans* (ausencia de diferencias con respecto a la dieta Control-Palma). Los índices de transferencia observados para el EPA y DHA (4% y 5% respectivamente) fueron mayores que los observados por Kitessa et al. (2001) suplementando la ración con aceite de pescado sin protección (2.5% y 3.5% respectivamente). La baja transferencia desde el intestino delgado a la leche de estos PUFA n-3 podría deberse a la incorporación de EPA y DHA en los fosfolípidos plasmáticos y ésteres de colesterol, en lugar de los triacilglicéridos de los quilomicrones circulantes (Kitessa et al, 2001; Shingfield et al, 2013). Este hecho favorece la baja absorción de PUFA n-3 en la glándula mamaria. Los aumentos en EPA, DPA y DHA observados con la incorporación de semilla extrusionada de lino podrían atribuirse a moléculas de ALA que escapan de la biohidrogenación y que son transferidas a la glándula mamaria, donde pueden ser metabolizadas por desaturación y elongación para formar PUFA n-3 de cadena larga, siendo los mayores FA producidos el EPA, DPA y DHA (Kaur et al., 2011). Las correlaciones positivas observadas entre ALA y EPA ($r = 0,78$, $P < 0,001$), EPA y DPA ($r = 0,76$, $P < 0,001$) y DPA vs. DHA ($r = 0,81$, $P < 0,001$) justificarían esta afirmación. En contraste con estos resultados la inclusión de aceite de linaza en la ración (LO) disminuyó la concentración de EPA, DPA y DHA en la leche con respecto a una ración control sin grasa.

3. Perfil de ácidos grasos de la carne de los lechazos

Los cambios en el perfil de ácidos grasos de la leche debidos a la dieta de las ovejas generaron diferencias significativas en el perfil de ácidos grasos de la carne y en los depósitos grasos de los respectivos corderos lechales. De hecho, las diferencias observadas en el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular y subcutánea de los corderos lechales reflejaron las diferencias encontradas en la grasa de la leche, ya que los corderos se alimentaron exclusivamente con leche materna hasta su sacrificio y a que la fisiología digestiva de los corderos lactantes es similar a la de animales monogástricos, con un rumen no funcional y, como consecuencia, sin biohidrogenación ruminal de los ácidos grasos de la leche (Osorio et al., 2007b; Manso et al., 2011).

Además, la ausencia de diferencias observadas en los índices de crecimiento y en el peso de los corderos lechales en las tres pruebas experimentales, hace que las diferencias en el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular y subcutánea puedan atribuirse, en la mayoría de los casos, al perfil de ácidos grasos de la leche consumida. Por otro lado se ha estimado que, durante las primeras semanas de vida de los corderos lechales, los FA absorbidos a nivel intestinal suponen el porcentaje más importante de los FA depositados en los tejidos, mientras que la síntesis *de novo* suministra menos del 20 % del total de los FA (Osorio et al., 2007b).

La principal diferencia observada entre el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular y subcutánea de los corderos lechales es el mayor contenido en PUFA y el menor contenido en SFA de la grasa intramuscular. Esta mayor presencia de PUFA en la grasa intramuscular se debe a la mayor proporción de fosfolípidos en este depósito (Juárez et al., 2010). Los fosfolípidos son los constituyentes esenciales de las membranas de las células y su alto contenido en PUFA es primordial para mantener sus propiedades y funciones fisiológicas. Este es el motivo por el que el perfil de ácidos grasos resulta más complicado de modificar en la grasa intramuscular que en otros depósitos grasos. Además, la relación n-6/n-3 de la grasa intramuscular presentó valores más bajos que la grasa subcutánea con los efectos beneficiosos que implica desde un punto de vista nutricional.

En general, las grasas utilizadas en este trabajo tendieron a reducir el contenido en SFA y a aumentar el contenido en MUFA y PUFA de la carne y de la grasa de los corderos. Los mayores niveles de PUFA en la carne se registraron al incorporar las grasas más insaturadas (FO y LIN) en la ración de las ovejas y reflejan las variaciones observadas en la leche. Sin embargo, y a pesar de los mayores valores de SFA de menos de 14 átomos de carbono en la grasa de la leche, la grasa intramuscular se caracteriza por un bajo contenido en estos FA.

Como resultado del alto contenido en VA y RA de la grasa de la leche consumida por los corderos lechales de los distintos tratamientos experimentales, sus depósitos grasos (intramuscular y subcutáneo) presentaron altos niveles de VA y RA, como demuestra la correlación positiva observada en el contenido de VA ($r = 0,71$, $P < 0,001$) y RA ($r = 0,56$, $P < 0,001$) entre la grasa de la leche y la grasa intramuscular al considerar todos los corderos sacrificados. La fuerte correlación existente entre el VA y

RA en la grasa intramuscular ($r = 0,96$, $P < 0,001$), se debe probablemente al doble origen del RA en los tejidos grasos, que procede tanto de la leche ingerida como de la síntesis endógena a partir de VA vía Δ^9 -*desaturasa* en los tejidos (Raes et al., 2004). Además, el mayor contenido en RA en la grasa intramuscular que en la grasa subcutánea se puede deber en parte a la mayor actividad de la CLA Δ^9 -*desaturasa* en el tejido intramuscular que en el tejido adiposo (Palmquist et al., 2004). Cabe destacar que estos aumentos en VA y RA al suplementar la ración de las ovejas con grasas no se vieron acompañados de aumentos significativos en el contenido en *trans-10* C18:1 y *trans-10, cis-12* C18:2 en la grasa intramuscular de los tratamientos OLI, FO y LIN, todos ellos con fuentes de grasa protegidas en mayor o menor medida, siendo los niveles despreciables. Sin embargo, la inclusión de aceite de linaza (LO) dio lugar a niveles más altos de *trans-10* C18:1 y *trans-10 cis-12* C18:2 en la grasa intramuscular, debido probablemente a un mayor contenido en la grasa de la leche de la madres. A diferencia de lo que ocurre con el ruménico RA, la absorción intestinal de *trans-10, cis-12* es el único camino para la presencia de este isómero en los productos animales, ya que los tejidos animales no poseen la enzima *desaturasa* capaz de insertar un doble enlace en posición *cis 12* en la molécula *trans-10* C18:1.

De acuerdo con lo señalado por otros autores en corderos lechales (Capper et al., 2007) la suplementación de la dieta con vitamina E o el tipo de vitamina E (natural o sintética) no dio lugar a diferencias significativas en el contenido de VA y RA de la grasa de los corderos, a pesar de las diferencias observadas en el contenido en RA de la grasa de la leche entre los tratamientos LO-Syn E y LO-Nat E (Figura 1).

De la misma manera que en la grasa de la leche, la suplementación con fuentes de grasa ricas en ácido α -linolénico (LIN y LO) aumentó el contenido en ALA de la grasa intramuscular (Figura 3). De hecho, la presencia de ALA en la grasa intramuscular de los corderos lechales estuvo correlacionada positivamente ($r = 0,60$, $P < 0,001$) con su contenido en la leche. El aporte de vitamina E en la dieta de las ovejas no originó diferencias en el contenido en ALA de la leche por lo que tampoco se reflejaron en la carne.

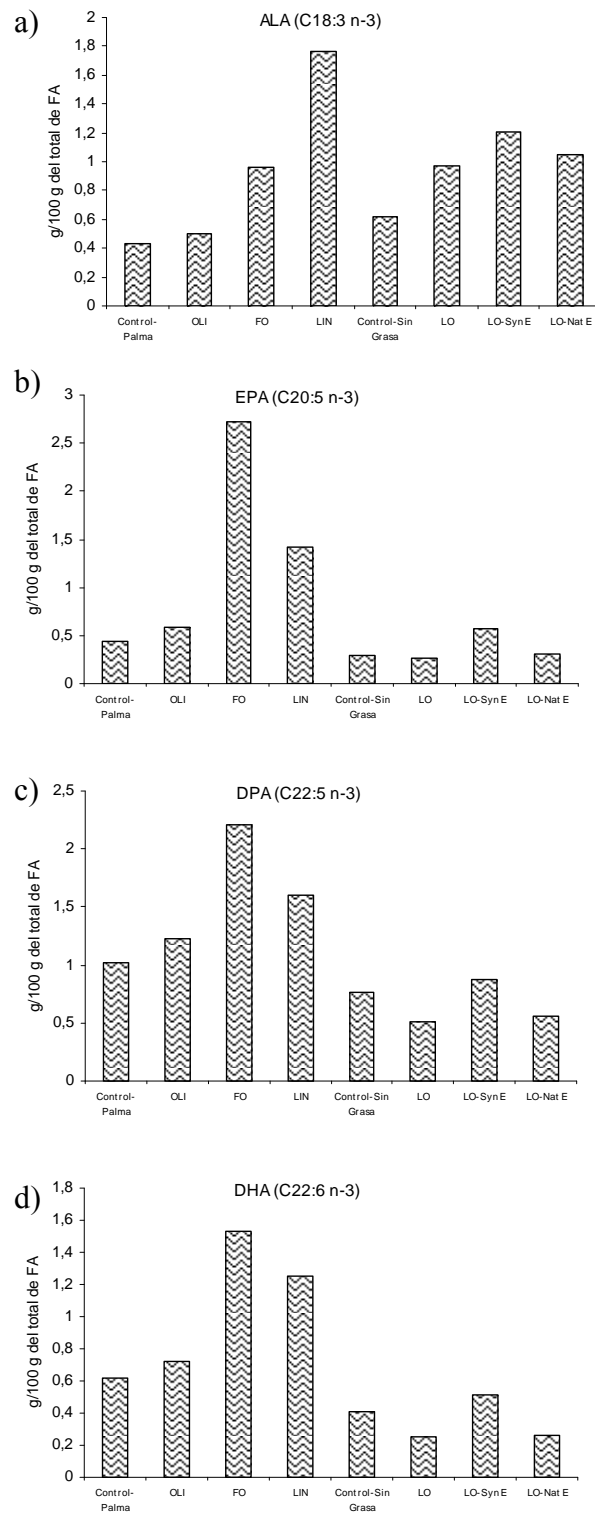


Figura 3. Contenido medio de ALA (a), EPA (b), DPA (c) y DHA (d) en la grasa intramuscular de los corderos lechales de los distintos tratamientos experimentales.

Los niveles de EPA, DPA y DHA aumentaron en la grasa intramuscular (Figura 3) pero no en la subcutánea al suplementar la dieta de las ovejas con una fuente de grasa de origen marino (FO) y con semilla extrusionada de lino (LIN). Las correlaciones positivas observadas entre el contenido de EPA ($r = 0,77$, $P < 0,001$), DPA ($r = 0,61$, $P < 0,001$) y DHA ($r = 0,57$, $P < 0,001$) en la grasa de la leche y la grasa intramuscular de los corderos lechales vuelven a confirmar la fuerte relación existente en el perfil de FA de la leche y de la carne. Sin embargo, los aumentos de PUFA n-3 de cadena larga observados con la semilla extrusionada de lino, no se observaron cuando las ovejas fueron suplementadas con aceite de linaza. Esta ausencia de diferencias en el nivel de EPA, DPA y DHA en la grasa intramuscular entre el tratamiento sin grasa y LO podría ser explicada por la mayor proporción de triglicéridos/fosfolípidos como consecuencia de mayor contenido en grasa intramuscular de los corderos del tratamiento LO (Prueba 3, Tabla 3). Puesto que la incorporación de ácidos grasos de cadena larga tienen lugar principalmente en los fosfolípidos, la ausencia de diferencias en el contenido de PUFA n-3 de cadena larga del tratamiento LO frente al Control sin grasa podría ser debida a la menor proporción de fosfolípidos del músculo de los corderos del tratamiento LO. En relación con esto, los aumentos observados en el contenido de EPA, DPA y DHA de la grasa intramuscular de los corderos cuyas madres fueron suplementadas con aceite de linaza y vitamina E sintética podrían explicarse más por las diferencias en el contenido de grasa intramuscular que por el efecto protector que la vitamina E ejerce sobre la oxidación de los PUFA.

Finalmente, y desde el punto de vista nutricional, los valores de la relación n-6/n-3 de los alimentos recomendadas para el consumo humano son inferiores a 4 (Simopoulos et al., 2008). Como consecuencia, la incorporación de CSFA de aceite de pescado (FO), semilla extrusionada de lino (LIN) y aceite de linaza (LO) en la ración de las ovejas en inicio de lactación permite mejorar la composición de la grasa de los corderos lactantes desde un punto de vista nutricional.

Aunque la transferencia de la vitamina E del alimento a la leche es baja (McDowell et al., 1996), la suplementación de la ración con vitamina E, sintética (LO-Syn E) o natural (LO-Nat E) de la dieta de las ovejas en lactación, nos permitió aumentar su contenido en la leche de las ovejas y en el músculo, de acuerdo con Capper et al. (2005). Puesto que la vitamina E natural presenta mayor bioactividad que la sintética a la misma dosis, el contenido en vitamina E de la leche fue mayor al incluir vitamina E natural que

sintética, aunque estas diferencias no se vieron reflejadas en el contenido de vitamina E en la carne.

El contenido en vitamina E del músculo de los corderos pertenecientes a los tratamientos LO-Syn E y LO-Nat E permitió reducir los niveles de oxidación de la carne de los corderos y mantenerlos por debajo de 1 mg MDA/kg músculo, límite de aceptabilidad de la carne de cordero (Ripoll et al., 2011) durante 12 días, sin que se detectaran diferencias entre el tipo de vitamina E incorporada.

El incremento en el contenido de vitamina E del músculo mejora la estabilidad del color de la carne (López-Bote et al., 2001). La carne de los corderos de los tratamientos con vitamina E presentaron menor valores de las coordenadas cromáticas L* (luminosidad) y b* y mayores de a* que el grupo control sin grasa o con aceite de linaza (LO), sin que se detectaran diferencias entre el tipo de vitamina añadida (natural vs. sintética). Estos resultados están de acuerdo con Elisabeth y Steven (2005) que han señalado que la vitamina E evita la oxidación, reduce las pérdidas de agua, la humedad superficial y a corto plazo reduce la luminosidad de la carne.

En definitiva, la inclusión de fuentes de grasa insaturada en la ración de ovejas en inicio de lactación permite aumentar el contenido en PUFA y de ácidos grasos asociados a efectos beneficiosos sobre la salud humana como el VA, RA y los PUFA n-3. Sin embargo, este aumento en el grado de insaturación hace la grasa de la carne más susceptible a la oxidación (Salvatori et al., 2004), por lo que el empleo de la vitamina E en la alimentación de rumiantes presenta un gran interés.

VIII. Conclusiones

Primera. La suplementación de la ración de ovejas Churras en inicio de lactación con jabón cálcico de aceite de oliva, aceite de pescado, semilla extrusionada de lino y aceite de linaza no modificó la producción ni el contenido en proteína de la leche. Sin embargo el porcentaje de grasa de la leche se vió reducido con la incorporación de jabón cálcico de aceite de oliva y aceite de pescado.

Segunda: Todos los suplementos lipídicos estudiados permitieron aumentar el contenido de algunos ácidos grasos bioactivos en la leche que se producen en la biohidrogenación de las grasas a nivel ruminal. El jabón cálcico de aceite de pescado fue la mejor estrategia para aumentar el contenido en ácido vacénico y ruménico en la leche. La inclusión de suplementos ricos en ácido α -linolénico como es el caso de la semilla extrusionada de lino también dio lugar a niveles elevados de ácido vacénico y ácido ruménico. El aumento en ácido vacénico y ácido ruménico de la leche de ovejas alimentadas con aceite de linaza estuvieron acompañados de aumentos significativos de *trans-10* C18:1 y *trans-10, cis-12* C18:2 lo que podría cuestionar la calidad nutricional y funcional de la leche producida.

Tercera: El empleo de suplementos con alto contenido en PUFA n-3 aumentó el nivel de algunos ácidos grasos n-3 en la leche. La suplementación de la dieta con semilla de lino y aceite de linaza aumentó la concentración de α -linolénico en la grasa de la leche. Para aumentar los niveles de otros PUFA n-3, como el EPA (20:5), DPA (C22:5) y DHA (C22:6) en la leche de oveja, el jabón cálcico de aceite de pescado fue la mejor estrategia nutricional.

Cuarta: Las variaciones en la producción y composición de la leche al incluir los suplementos lipídicos estudiados no provocaron efectos negativos sobre los rendimientos productivos y las características de la canal de los corderos lechales producidos. El perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular y subcutánea de los corderos lechales reflejó las variaciones en la composición de la grasa de la leche. Se encontraron mayores variaciones en los niveles de PUFA en la grasa intramuscular que en la subcutánea.

Quinta: La inclusión de 0,4 g de vitamina E (natural o sintética) por kg en raciones con aceite de linaza originó un limitado efecto sobre los rendimientos productivos de los animales y sobre el perfil de ácidos grasos de la leche y de la carne. Sin embargo, provocó un descenso significativo en el nivel de oxidación lipídica, sin que se observaran diferencias significativas en la oxidación y evolución del color de la carne debidas al tipo de vitamina E incorporada (sintética vs. natural).

IX. Conclusions

First: Supplementation of early lactating Churra ewe diets with calcium soap of olive oil, calcium soap of fish oil, extruded linseed and linseed oil did not affect either production or the milk protein content. However, milk fat percentage was reduced with the inclusion of calcium soap of olive oil and fish oil.

Second. All the lipid supplements studied increased the content of some bioactive fatty acids in the milk fat that originated from fat biohydrogenation in the rumen. The addition of calcium soap of fish oil to ewe diets was the better nutritional strategy to increase the milk content of vaccenic and rumenic acids. The addition of α -linolenic acid-rich supplements, such as extruded linseed, also increased the milk content of vaccenic and rumenic acids. However, vaccenic and rumenic acid increases in the milk fat of linseed oil diets were linked to increases in *trans-10* C18:1 and *trans-10, cis-12* C18:2, which could cast some doubt on the nutritional and functional quality of the milk.

Third. The use of fat supplements with high n-3 PUFA content increased the levels of some n-3 fatty acids in milk. Supplementation of ewe diets with α -linolenic acid-rich supplements (extruded linseed and linseed oil) also increased their content in milk fat. To increase the milk fat content of n-3 PUFA, such as EPA (20:5), DPA (C22:5) and DHA (C22:6), FO was the better nutritional strategy.

Fourth. Differences in milk yield and composition due to the addition of the studied lipid supplements did not negatively affect animal performance and suckling lamb carcass characteristics. The fatty acid profile of suckling lamb intramuscular and subcutaneous fats reflected the changes in milk fat composition, with greater changes being observed in PUFA content in intramuscular rather than in subcutaneous fat.

Fifth. The inclusion of 0,4 g of vitamin E (natural or synthetic) per kg in ewe diets with linseed oil had a limited effect on animal performance and milk and meat fatty acid profiles. However, vitamin E inclusion reduced the lipid oxidation without producing differences in oxidation and colour evolution owing to the type of vitamin E used (synthetic vs. natural).

X. Bibliografía

- Aalhus, J.L., Dugan, M.E.R., 2004. Spoilage, factors affecting (b) oxidative and enzymatic. En: *Encyclopedia of Meat Sciences* (W.K. Jensen, C. Devine, M. Dikeman, eds.). pp. 1330-1336. Elsevier, Oxford (Reino Unido).
- Abheri, D.S., Anisur R.M., Ghosh, A.K., 2010. Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research* 1, 185-192.
- AbuGhazaleh, A.A., Jenkins, T.C., 2004. Disappearance of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids from cultures of mixed ruminal microorganisms. *Journal of Dairy Science* 87, 645-651.
- 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.
- Akiba, S., Muata, T., Kitatani, K., Sato, T., 2000. Involvement of lipoxygenase pathway in docosapentaenoic acid-induced inhibition of platelet aggregation. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 23, 1293-1297.
- Alderson, N.E., Mitchell, J.R., Little, G.E., Warner, R.E., Tucker, R.E., 1971. Pre-intestinal disappearance of vitamin E in ruminants. *The Journal of Nutrition* 101, 655-660.
- 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.
- Annison, E.F., Linzel, J.L., Fazakerley, S., Nichols, B.W., 1967. The oxidation and utilization of palmitate, stearate, oleate and acetate by the mammary gland of the fed goat in relation to their overall metabolism, and the role of plasma phospholipids and neutral lipids in milk-fat synthesis. *Biochemical Journal* 102, 637-647.
- Annunziata, A., Vecchio, R., 2011. Functional foods development in the European market: A consumer perspective. *Journal of Functional Foods* 3, 223-228.
- Antongiovanni, M., Secchiari, P., Mele, M., Buccioni, A., Serra, A., Ferruzzi, G., Rapaccini, S., Pistoia, A., 2002. Olive oil calcium soaps and rumen protected methionine in the diet of lactating ewes: effect on milk quality. *Journal of Animal Science* 1, 55-63.
- 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.
- Appleton, K.M., Rogers, P.J., Ness, A.R., 2010. Updated systematic review and meta-analysis of the effects of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids on depressed mood. *The American Journal of Clinical Nutrition* 91, 757-770.
- Atti, N., Rouissi, H., Othmane, M.H., 2006. Milk production, milk fatty acid composition and conjugated linoleic acid (CLA) content in dairy ewes raised on feedlot or grazing pasture. *Livestock Science* 104, 121-127.
- Banni, S., Carta, C., Contini, M.S., Angioni, E., Deiana, M., Dessi, M.A., Melis, M. P., Corongiu, F. P., 1996. Characterization of conjugated diene fatty acid in milk, dairy products, and lamb tissue. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 7, 150-155.
- Barbosa, E., Oliveira, C., Casal, S., Soares, L., Vale, A.P., Lopes, J.C., Brito, N.V., 2003. Quantification and variability of conjugated linoleic acids levels in sheep milk of two Portuguese breeds. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 2, 493-497.
- Bas, P., Chilliard, Y., Morand-Fehr, P., Rouzeau, A., Mandran, N., 1987. Composition des principaux tissus adipeux de la chèvre Alpine en fin de lactation. *Annales de Zootechnie* 36, 361-374.
- Bas, P., Morand-Fehr, P., 2000. Effect of nutritional factors on fatty acid composition of lamb fat deposits. *Livestock Production Science* 64, 61-79.
- Bassett, C.M.C., Edel, A.L., Patenaude, A.F., McCullough, R.S., Blackwood, D.P., Chouinard, P.Y., Paquin, P., Lamarche, B., Pierce, G.N., 2010. Dietary vaccenic acid has antiatherogenic effects in LDLr^{-/-} mice. *Journal of Nutrition* 140, 18-24.
- Bauman, D.E., Griinari, J.M., 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition* 23, 203-227.
- Bauman, D.E., Corl, B.A., Peterson, D.G., 2003. The biology of conjugated linoleic acids in ruminants. En: *Advances in conjugated linoleic acid research*. Vol. 2. (J.L. Sébédio, W.W. Christie, R.O. Adlof, eds.). pp. 146-173. AOCS Press, Champaign, Illinois (Estados Unidos).

- Bauman, D.E., Mather, I.H., Wall, R.J., Lock, A.L., 2006. Major advances associated with the biosynthesis of milk. *Journal of Dairy Science* 89, 1235-1243.
- Bauman, D.E., Harvatine, K.J., Lock, A.L., 2011. Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition* 31, 299-319.
- Beare-Rogers, J., 1988. Nutritional attributes of fatty acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 65, 91-95.
- Bell, J.A., Griinari, J.M., Kennelly, J.J., 2006. Effect of safflower oil, flaxseed oil, monensin, and vitamin E on concentration of conjugated linoleic acid in bovine milk fat. *Journal of Dairy Science* 89, 733-748.
- Benjamin, S., Spener, F., 2009. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits. *Nutrition and Metabolism* 6, 36.
- Beppo, F., Hosokawa, M., Tanaka, L., Kohno, H., Tanaka, T., Miyashita, K., 2006. Potent inhibitory effect of *trans*9, *trans*11 isomer of conjugated linoleic acid on the growth of human colon cancer cells. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 17, 830-836.
- Beriain, M.J., Horcada, A., Purroy, A., Lizaso, G., Chasco, J., Mendizabal, J.A., 2000. Characteristics of Lacha and Rasa Aragonesa lambs slaughtered at three live weights. *Journal of Animal Science* 78, 3070-3077.
- Bernard, L., Letoux, C., Bonnet, M., Ronel, J., Martin, P., Chilliard, Y., 2005. Expression and nutritional regulation of lipogenic genes in mammary gland and adipose tissues of lactating goats. *Journal of Dairy Research* 72, 250-255.
- Bernués, A., Ripoll, G., Panea, B., 2012. Consumer segmentation based on convenience orientation and attitudes towards quality attributes of lamb meat. *Food Quality and Preference* 26, 211-220.
- Berthelot, V., Bas, P., Schmidely, P., 2010. Utilization of extruded linseed to modify fatty composition of intensively-reared lamb meat: Effect of associated cereals (wheat vs. corn) and linoleic acid content of the diet. *Meat Science* 84, 114-124.
- Bhat, Z.F., Bhat, H., 2011. Milk and dairy products as functional foods: A review. *International Journal of Dairy Science* 6, 1-12.
- Bhattacharaya, A., Banu, J., Rahman, M., Causey, J., Fernades, G., 2006. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *Journal of Nutrition and Biochemistry* 17, 789-810.
- Bianchi, G., Garibott, G., Feed, O., Bentancur, O., Franco, J., 2006. Efecto del peso al sacrificio sobre la calidad de la canal y de la carne de corderos Corriedale puros y cruzados. *Archivos de Medicina Veterinaria* 38, 161-165.
- Bichi, E., Toral, P.G., Hervás, G., Frutos, P., Gómez-Cortés, P., Juárez, M., De la Fuente, M.A., 2012. Inhibition of Δ 9-desaturase activity with sterculic acid: effect on the endogenous synthesis of *cis*-9 18:1 and *cis*-9 *trans*-11 18:2 in dairy sheep. *Journal of Dairy Science* 95, 5242-5252.
- Bionaz, M., Loor, J.J., 2008. Gene networks driving bovine milk fat synthesis during the lactation cycle. *BMC Genomics* 9, 366.
- 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.
- BOE 30/09/75, Orden de 18 de Septiembre de 1975 por la que se aprueba la Norma de calidad para canales de ovino destinadas al mercado nacional. *Boletín Oficial del Estado*, nº 234 20633-20635, de 30 de septiembre de 1975.
- Bouattour, M.A., Casals, R., Albanell, E., Such, X., Caja, G., 2006. Milk fatty acid composition and dairy performances in Lacaune sheep fed whole linseed and linseed oil with reference to CLA. *Journal of Animal Science* 84, 64-64.
- 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.
- Bover, R., Villacastín, J., Pérez-Castellano, N., Moreno, J., Morales, R., Macaya, C., 2006. Supresión de arritmias supraventriculares y ventriculares. ¿Qué papel pueden desempeñar los ácidos grasos omega-3? *Revista Española de Cardiología* 6, 38-51.

- Brodie, A.E., Manning, V.A., Ferguson, K.R., Jewell, D.E., Hu, C.Y., 1999. Conjugated linoleic acid inhibits differentiation of pre- and post-confluent 3T3-L1 preadipocytes but inhibits cell proliferation only in pre-confluent cells. *Journal of Nutrition* 129, 602-606.
- Buckley, D.J., Morrissey, P.A., Gray, J.I., 1995. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. *Journal of Animal Science* 73, 3122-3130.
- Cabiddu, A., Carta, G., Molle, G., Decandia, M., Addis, M., Piredda, G., Delogu, A., Pirisi, A., Lai, V., Cera, V., Taras, L., Lallai, C., Banni, S., 2005a. Relationship between feeding regimen and content of conjugated linoleic acid in sheep milk and cheese. *Options méditerranéennes* 67, 171-175.
- Cabiddu, A., Decandia, M., Addis, M., Piredda, G., Pirisi, A., Molle, G., 2005b. Managing Mediterranean pastures in order to enhance the level of beneficial fatty acids in sheep milk. *Small Ruminant Research* 59, 169-180.
- Caja, G., Bocquier, F., 2000. Effects of nutrition on the composition of sheep's milk. *Options méditerranéennes* 52, 59-74.
- Callow, E. H., 1962. Comparative studies of meat. VIII. The percentage of fat in the fatty acid and muscular tissues of steers and iodine number of the extracted fat, as affected by breed and level of nutrition. *Journal of Agricultural Science* 58, 295-307.
- Calsamiglia, S., Bach, A., de Blas, C., Fernández, C., García-Rebollar, P., 2009. Necesidades nutricionales para rumiantes de leche. *Normas Fedna*. Fundación Española para el Desarrollo de la Alimentación Animal, Madrid (España).
- Cañeque, V., Díaz, M. T., Álvarez, I., Lauzurica, S., Pérez, C., De la Fuente, J., 2005. The influences of carcass weight and depot on the fatty acid composition of fats of suckling Manchego lambs. *Meat Science* 70, 373-379.
- 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.
- Carrasco, S., Ripoll, G., Sanz, A., Álvarez-Rodríguez, J., Panea, B., Revilla, R., Joy, M., 2009. Effect of feeding system on growth and carcass characteristics of Churra Tensina light lambs. *Livestock Science* 121, 56-63.
- Carrillo Fernández, L., Dalmau Serra, J., Martínez Álvarez, J.R., Sola Alberich, R., Pérez Jiménez, F., 2011. Grasas de la dieta y salud cardiovascular. *Anales de Pediatría* 74, 192.e1-192.e16.
- Casals, R., Caja, G., Pol, M.V., Such, X., Albanell, E., Gargouri, A., Casellas, J., 2006. Response of lactating dairy ewes to various levels of dietary calcium soaps of fatty acids. *Animal Feed Science and Technology* 131, 312-332.
- Castañeda-Gutiérrez, E., De Veth, M.J., Lock, A.L., Dwyer, D.A., Murphy, K.D., Bauman, D.E., 2007. Effect of supplementatin with calcium salts of fish oil on n-3 fatty acids in milk fat. *Journal of Dairy Science* 90, 4149-4156.
- Castillo, V., Such, X., Caja, G., Salama, A.A.K., Albanell, E., Casals, R., 2008. Changes in alveolar and cisternal compartments induced by milking interval in the udder of dairy ewes. *Journal of Dairy Science* 91, 3403-3411.
- Castro, T., Manso, T., Mantecón, A. R., Guirao, J., Jimeno, V., 2005. Fatty acid composition and carcass characteristics of growing lamb fed diets containing palm oil supplements. *Meat Science* 69, 757-764.
- Castro, T., Manso, T., Jimeno, V., Del Alamo, M., Mantecon, A.R., 2009. Effects of dietary sources of vegetable fats on performance of dairy ewes and conjugated linoleic acid (CLA) in milk. *Small Ruminant Research* 84, 47-53.
- Cherfaoui, M., Durand, D., Bonnet, M., Cassar-Malek, I., Bauchart, D., Thomas, A., Gruffat, D., 2012. Expression of enzymes and transcription factors involved in n-3 long chain PUFA biosynthesis in Limousin bull tissues. *Lipids* 47, 391-401.
- Chikunya, S., Demirel, G., Enser, M., Wood, J.D., Wilkinson, R.G., Sinclair, L.A., 2004. Biohydrogenation of dietary n-3 PUFA and stability of ingested vitamin E in the rumen, and their effects on microbial activity in sheep. *British Journal of Nutrition* 91, 539-550.

- Chilliard, Y., Gagliostro, G., Flechet, J., Lefaivre, J., Sebastian, I., 1991. Duodenal rapessed oil infusion in early and midlactation cows. 5. Milk fatty acids and adipose tissue lipogenic activities. *Journal of Dairy Science* 74, 1844-1854.
- Chilliard, Y., 1993. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, and rodents: a review. *Journal of Dairy Science* 76, 3897-3931.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Mansbridge, R.M., Doreau, M., 2000. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Annales de Zootechnie* 49, 181-205.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Doreau, M., 2001. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cows diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science* 70, 31-48.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., 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., Ferlay, A., 2004. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reproduction Nutrition Development* 44, 467-492.
- Chilliard, Y., Ronel, J., Ferlay, A., Bernard, L., Gaborit, P., Raynal-Ljntovac, K., Lauret, A., Letoux, C., 2006. Optimising goat milk and cheese fatty acid composition; effects of genotype, feeding factors and dairy technology. En: *Improving the Fat Content of Foods*. (C. Williams, J. Buttries, eds.) pp. 281-312. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge (Reino Unido).
- Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernand, 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.
- Chilliard, Y., Martin, C., Rouel, J., Doreau, M., 2009. Milk fatty acids in dairy cows fed whole crude linseed, extruded linseed, or linseed oil, and their relationship with methane output. *Journal of Dairy Science* 92, 5199-5211.
- Cieslak, A., Kowalczyk, J., Czauderna, M., Potkanski, A., Szumacher-Strabel, M., 2010. Enhancing unsaturated fatty acids in ewe's milk by feeding rapeseed or linseed oil. *Czech Journal of Animal Science* 55, 496-504.
- Cole, G.M., Frautschy, S.A., 2010. DHA may prevent age-related dementia. *Journal of Nutrition* 140, 869-74.
- Corl, B.A., Baumgard, L.H., Griinari, J.M., Delmonte, P., Morehouse, K.M., Yurawecz, M.P., Bauman, D.E., 2002. *trans*-7,*cis*-9 CLA is synthesized endogenously by Δ^9 -Desaturase in Dairy Cows. *Lipids* 37, 681-688.
- Cortés, M., Chiralt, A., Puente, L., 2005. Alimentos funcionales: una historia con mucho presente y futuro. *Vitae* 12, 5-14.
- Cottin, S.C., Sanders, T.A., Hall, W.L., 2011. The differential effects of EPA and DHA on cardiovascular risk factors. *Proceedings of the Nutrition Society* 70, 215-231.
- Cramer, D.A., Marchello, J.A., 1963. Seasonal and sex patterns in fat composition of lambs. *Journal Animal Science* 23, 1002-1010.
- D'Alessandro, A.G., Maiorano, G., Kowaliszyn, B., Loiudice, P., Martemucci, G., 2012. How the nutritional value and consumer acceptability of suckling lambs meat is affected by the maternal feeding system. *Small Ruminant Research* 106, 83-91.
- Daza, A., Lopez-Bote, C.J., Rey, A., 2003. Influencia de la Vitamina E sobre algunas características de la calidad de la carne de corderos ligeros. *Ganaderia* 22, 72-77.
- De La Fuente, L.F., Barbosa, E., Carriedo, J.A., Gonzalo, C., Arenas, R., Fresno, J.M., Primitivo, F.S., 2009. Factors influencing variation of fatty acid content in ovine milk. *Journal of Dairy Science* 92, 3791-3799.
- De La Torre, A., Gruffat, D., Durand, D., Micol, D., Peyron, A., Scislowski, V., Bauchart, D., 2006. Factors influencing proportion and composition of CLA in beef. *Meat Science* 73, 258-268.
- De Marchi, M., Riovanto, R., Penasa, M., Cassandro, M., 2012. At-line prediction of fatty acid profile in chicken breast using near infrared reflectance spectroscopy. *Meat Science* 90, 653-657.
- Deaville, E.R., Givens, D.I., Blake, J.S., 2004. Dietary supplements of whole linseed and vitamin E to increase levels of alpha-linolenic acid and vitamin E in bovine milk. *Animal Research* 53, 3-12.
- 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.

- Decker, E.A., Park, Y., 2010. Healthier meat products as functional foods. *Meat Science* 86, 49-55.
- Declercq, V., Zahradka, P., Taylor, C.G., 2010. Dietary *t10,c12* CLA but not *c9,t11* CLA reduces adipocyte size in the absence of changes in the adipose renin-angiotensin system in fa/fa Zucker rats. *Lipids* 45, 1025-1033
- Decreto 2484/1967 de 21 de septiembre, por el que se aprueba el texto del Código Alimentario Español. *Boletín Oficial del Estado*, nº 248/14180-14187, de 17 de octubre de 1967.
- 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.
- Dervishi, E., Joy, M., Alvarez-Rodriguez, J., Serrano, M., Calvo, J.H., 2012. The forage type (grazing versus hay pasture) fed to ewes and the lamb sex affect fatty acid profile and lipogenic gene expression in the longissimus muscle of suckling lambs. *Journal of Animal Science* 90, 54-66.
- Destailats, F., Trottier, J.P., Galvez, J.M.G., Angers, P., 2005. Analysis of α -linolenic acid biohydrogenation intermediates in milk fat with emphasis on conjugated linolenic acids. *Journal of Dairy Science* 88, 3231-3239.
- Devillard, E., Wallace, R.J., 2006. Biohydrogenation in the rumen and human intestine: implications for CLA and PUFA. *Lipid Technology* 18, 127-130.
- Devillard, E., McIntosh, F.M., Duncan, S.H., Wallace, R.J., 2007. Metabolism of linoleic acid by human gut bacteria: different routes for biosynthesis of conjugated linoleic acid. *Journal of Bacteriology* 189, 2566-2570.
- 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.
- Díaz, M.T., Velasco, S., Cañeque, V., Lauzurica, S., Huidobro, F.R., Pérez, C., Gonzalez, J., Manzanares, C., 2002. Use of concentrate or pasture for fattening lambs and its effect on carcass and meal quality. *Small Ruminant Research* 43, 257-268.
- Díaz, M.T., Velasco, S., Pérez, C., Lauzurica, S., Huidobro, F., Cañeque, V., 2003. Physico-chemical characteristics of carcass and meat Manchego-breed suckling lambs slaughtered at different weights. *Meat Science* 65, 1085-1093.
- Díaz, M.T., Sánchez, M., Martínez, B., Vieira, C., García, M.D., 2005. Valor nutritivo de la carne: determinación del contenido energético. En: *Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes*. Monografías INIA: Serie Ganadería, nº3. (C. Sañudo y V. Cañeque, eds.). pp. 274-281. Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria. Ministerio de Educación y Ciencia, Madrid (España).
- Dimara, E., Petrou, A., Skuras, D., 2004. Agricultural policy for quality and producers' evaluations of quality marketing indicators: a Greek case study. *Food Policy* 29, 485-506.
- Diplock, A.T., Aggett, P.J., Ashwell, M., Bornet, F., Fern, E.B., Roberfroid, M.B., 1999. Scientific concepts of functional foods in Europe. Consensus document .FUFOSE. *British Journal of Nutrition* 81, 1-27.
- Dobarganes García, C., Pérez Hernández, M., Cantalapiedra, G., Salas, J.M., Merino, J.A., 2005. Bypassing the rumen in dairy ewes: the reticular groove reflex vs. calcium soap of olive fatty acids. *Journal of Dairy Science* 88, 741-747.
- Doreau, M., Ferlay, A., Digestion and utilisation of fatty acids by ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 45, 379-396.
- Doreau, M., Poncet, C., 2000. Ruminant biohydrogenation of fatty acids originating from fresh or preserved grass. *Reproduction, Nutrition, Development* 40, 201-209.
- 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.
- EFSA, 2005. Opinión del Comité Científico de Productos Dietéticos, Nutrición y Alergias relativa a la propuesta de la Comisión Europea sobre Alegaciones Nutricionales de ácidos grasos omega-3, grasa monoinsaturada, insaturada y poliinsaturada. *The EFSA Journal* 253, 1-29.

- EFSA, 2009. Draft Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. Request N° EFSA-Q-2008-466.
- Elisabeth, H.L., Steven, M.L., 2005. Mechanisms of water holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science* 71, 194-204.
- Enser, M., Hallet, K., Hewett, B., Fursey, G.A.J., Wood, J.D., 1996. Fatty acid content and composition of English beef, lamb and pork at retail. *Meat Science* 42, 443-456.
- Ferdinandusse, S., Denis, S., Mooijer, P.A.W., Zhang, Z., Reddy, J.K., Spector, A.A., Wanders, R.J.A., 2001. Identification of the peroxisomal β -oxidation enzymes involved in the biosynthesis of docosahexaenoic acid. *Journal of Lipid Research* 42, 1987-1995.
- Funahashi, H., Satake, M., Hasan, S., Sawai, H., Reber, H.A., Hines, O.J., 2006. The n-3 polyunsaturated fatty acid EPA decreases pancreatic cancer cell growth in vitro. *Pancreas* 33, 462-462.
- Gama, M.A.S., Garnsworthy, P.C., Griinari, J.M., Leme, P.R., Rodrigues, P.H.M., Souza, L.W.O., Lanna, D.P.D., 2008. Diet-induced milk fat depression: association with changes in milk fatty acid composition and fluidity of milk fat. *Livestock Science* 115, 319-331.
- García, R., Coll, L., 1976. Contribución al estudio de la grasa de la leche de ovejas españolas. *Anales de Bromatología* 28, 211-340.
- 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).
- Gargouri, A., Caja, G., Casals, R., Mezghani, I., 2006. Lactational evaluation of effects of calcium soap of fatty acids on dairy ewes. *Small Ruminant Research* 66, 1-10.
- Gebauer, S.K., Psota, T.L., Kris-Etherton, P.M., 2007. The diversity of health effects of individual trans fatty acid isomers. *Lipids* 42, 787-99.
- German, J.B., Dillard, C.J., 2006. Composition, structure and absorption of milk lipids: a source of energy, fat-soluble nutrients and bioactive molecules. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46, 57-92.
- Gillingham, L.G., Harris-Janzen, S., Jones, P.J.H., 2011. Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. *Lipids* 46, 209-228.
- Gobert, M., Gruffat, D., Habeanu, M., Parafita, E., Bauchart, D., Durand, D., 2010. Plant extracts combined with vitamin E in PUFA-rich diets of cull cows protect processed beef against lipid oxidation. *Meat Science* 85, 676-683.
- Goetsch, A.L., Zeng, S.S., Gipson, T.A., 2011. Factors affecting goat milk production and quality. *Small Ruminant Research* 101, 55-63.
- Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Mantecón, A.R., Juárez, M., de la Fuente, M.A., Hervas, G., 2008. Addition of olive oil to dairy ewe diets: Effect on milk fatty acid profile and animal performance. *Journal of Dairy Science* 91, 3119-3127.
- Gómez-Cortés, P., Tyburczy, C., Brenna, J.T., Juárez, M., de la Fuente, M.A., 2009a. Characterization of *cis-9 trans-11 trans-15* C18:3 in milk fat by GC and covalent adduct chemical ionization tandem MS. *The Journal of Lipid Research* 50, 2412-2420.
- 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., Bodas, R., Mantecón, A.R., de la Fuente, M.A., Manso, T., 2011. Milk composition and fatty acid profile of residual and available milk from ewes fed with diets supplemented with different vegetable oils. *Small Ruminant Research* 97, 72-75.
- Gong, J., Campos, H., McGarvey, S., Wu, Z., Goldberg, Z., Baylin, A., 2011. Adipose tissue palmitoleic acid and obesity in humans: does it behave as a lipokine? *The American Journal of Clinical Nutrition* 93, 186-191.
- Goudjil, H., Fontecha, J., Luna, P., Fuente de la., M.A. Alonso, L., Juárez, M., 2004. Quantitative characterization of unsaturated and trans fatty acid in ewe's milk fat. *Lait* 84, 473-482.
- Griinari, J.M., Bauman, D.E., 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. En: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. Vol. 1. (M.P.

- Yurawecz, M.M. Mossoba, J.K.G. Kramer, M.W. Pariza, G.J. Nelson, eds.). pp. 180-200. AOCS Press, Champaign, Illinois (Estados Unidos).
- Griinari, J.M., Corl, B.A., Lacy, S.H., Chouinard, P.Y., Nurmela, K.V., Bauman, D.E., 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 -desaturase. *Journal of Nutrition* 130, 2285-2291.
- Griinari, J.M., Bauman, D.E., 2003. Update on theories of diet-induced milk fat depression and potential applications. *Recent Advances in Animal Nutrition* 37, 115-156.
- Guidera, J., Kerry, J.P., Buckley, D.J., Lynch, P.B., Morrissey, P.A., 1997. The effect of dietary vitamin E supplementation on the quality of fresh and frozen lamb meat. *Meat Science* 45, 33-43.
- 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, Oxford (Reino Unido) y Ames, Iowa (Estados Unidos).
- Hansen, H.O., Knudse, J., 1987. Effect of exogenous long-chain fatty acids on lipid biosynthesis synthesis in dispersed ruminant mammary gland cells: esterification of long-chain exogenous fatty acids. *Journal of Dairy Science* 70, 1344-1349.
- Harfoot, C.G., Hazlewood, G.P., 1997. Lipid metabolism in the rumen. 1997. En: *The rumen microbial ecosystem*. (P.N. Hobson, C.S. Stewart, eds.). pp 382-426. Blackie Academic and Professional, London (Reino Unido).
- Hargrave-Barnes, K.M., Azain, M.J., Miner, J.L., 2008. Conjugated linoleic acid-induced fat loss dependence on Δ^6 -desaturase or cyclooxygenase. *Obesity (Silver Spring)* 16, 2245-2252.
- Harris, P.L., Ludwig, M.I., 1949. Relative vitamin E potency of natural and of synthetic alpha-tocopherol. *Journal of Biological Chemistry* 179, 1111-1115.
- Harris, W.S., Pottala, J.V., Sands, S.A., Jones, P.G., 2007. Comparison of the effects of fish and fish-oil capsules on the n-3 fatty acid content of blood cells and plasma phospholipids. *The American Journal of Clinical Nutrition* 86, 1621-1625.
- Harris, W.S., Miller, M., Tighe, A.P., Davidson, M.H., Schaefer, E.J., 2008. Omega-3 fatty acids and coronary heart disease risk: Clinical and mechanistic perspectives. *Atherosclerosis* 197, 12-24.
- Hatfield P.G., Robinson, B.L., Minikhiem, D.L., Kott, R.W., Roth, N.I., Daniels, J.T., Swenson, C.K., 2002. Serum alpha-tocopherol and immune function in yearling ewes supplemented with zinc and vitamin E. *Journal of Animal Science* 80, 1329-1334.
- Horn, M.J., Van Emon, M.L., Gunn, P.J., Eicher, S.D., Lemenager, R.P., Burgess, J., Pyatt, N., Lake, S.L., 2010. Effects of maternal natural (RRR alpha-tocopherol acetate) or synthetic (all-rac alpha-tocopherol acetate) vitamin E supplementation on suckling calf performance, colostrum immunoglobulin G, and immune function. *Journal of Animal Science* 88, 3128-3135.
- Hunter, J.E., Zhang, J., Kris-Etherton, P.M., 2010. Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans, other saturated, and unsaturated fatty acids: a systematic review. *The American Journal of Clinical Nutrition* 91, 46-63.
- Hussein, M., Harvatine, K.H., Weerasinghe, P.B., Sinclair, L.A., Bauman, D.E., 2013. Conjugated linoleic acid-induced milk fat depression lactating ewes is accompanied by reduced expression of mammary genes involved in lipid synthesis. *Journal of Dairy Science* 96, 3825-3834.
- Ian, H.M., 2000. A review and proposed nomenclature for major proteins of the milk-fat globule membrane. *Journal of Dairy Science* 83, 203-247.
- Ingold, K.U., Burton, G.W., Foster, D.O., Hughes, L., Lindsay, D.A., Webb, A., 1987. Biokinetics of and discrimination between dietary RRR- and SRR- α -tocopherols in the male rat. *Lipids* 22, 163-172.
- ISSFAL, 2004. International society for the study of fatty acids and lipids, recommendations for intake of polyunsaturated fatty acids in healthy adults. <http://www.issfal.org.uk/> [Consulta: 5 febrero 2011]
- Jackson, H., Winkler, V.W., 1970. Effects of starvation on the fatty acid composition of adipose tissue and plasma lipids of sheep. *Journal of Nutrition* 100, 201-207.
- Jackson, K.G., Wolstencroft, E.J., Bateman, P.A., Yaqoob, P., Williams, C.M., 2005. Greater enrichment of triacylglycerol-rich lipoproteins with apolipoproteins E and C-III after meals rich in saturated fatty acids than after meals rich in unsaturated fatty acids. *The American Journal of Clinical Nutrition* 81, 25-34.
- Jakobsson, A., Westerberg, R., Jakobsson, A., 2006. Fatty acid elongases in mammals: Their regulation and roles in metabolism. *Progress in Lipid Research* 45, 237-249.

- Jenkins, T.C., 1993. Lipid metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science* 76, 3851-3863.
- Jenkins, T.C., Wallace, R.J., Moate, P.J., Mosley, E.E., 2008. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *Journal of Animal Science* 86, 397-412.
- Jensen, P.G., Pitas, R.E., 1976. Milk lipoprotein lipases: a review. *Journal of Dairy Science* 59, 1203-1214.
- Joy, M., Alvarez-Rodriguez, J., Revilla, R., Delfa, R., Ripoll, G., 2008. Ewe metabolic performance and lamb carcass traits in pasture and concentrate-based production systems in Churra Tensina breed. *Small Ruminant Research* 75, 24-35.
- Joy, M., Sanz, A., Ripoll, G., Panea, B., Ripoll-Bosch, R., Blasco, I., Alvarez-Rodriguez, J., 2012a. Does forage type (grazing vs. hay) fed to ewes before and after lambing affect suckling lambs performance, meat quality and consumer purchase intention? *Small Ruminant Research* 104, 1-9.
- Joy, M., Ripoll, G., Molino, F., Dervishi, E., Alvarez-Rodriguez, J., 2012b. Influence of the type of forage supplied to ewes in pre- and post-partum periods on the meat fatty acids of suckling lambs. *Meat Science* 90, 775-782.
- Juárez, M., Horcada, A., Alcalde, M.J., Valera, M., Mullen, A.M., Molina, A., 2008. Estimation of factors influencing fatty acid profiles in light lambs. *Meat Science* 79, 203-210.
- Juárez, M., Fontecha, J. 2009. Componentes bioactivos de la grasa láctea. En: *Funcionalidad de los componentes lácteos*. (J. Fontecha, I. Recio, A.M.R. Pilosof, eds.). pp. 251-273. Limencop S.L., Alicante (España).
- Juárez, M., Micheo, J.M., Garcia, E., Pena, F., Polvillo, O., 2009a. "Chivo Lechal Malagueno" meat quality as affected by carcass weight. *Itea-Informacion Técnica Económica Agraria* 105, 28-35.
- Juárez, M., Horcada, A., Alcalde, M.J., Valera, M., Polvillo, O., Molina, A., 2009b. Meat and fat quality of unweaned lambs as affected by slaughter weight and breed. *Meat Science* 83, 308-313.
- Juárez, M., Horcada, A., Alcalde, M.J., Aldai, N., Polvillo, O., Valera, M., Molina, A., 2010. Fatty acid composition of lamb fat depots as an origin discriminator. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8, 976-980.
- Juárez, M., Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Aldai, N., Basarab, J.A., Baron, V.S., McAllister, T.A., 2011. Effects of vitamin E and flaxseed on rumen-derived fatty acid intermediates in beef intramuscular fat. *Meat Science* 88, 434-440.
- Juárez, M., Dugan, M.E.R., Aldai, N., Basarab, J.A., Baron, V.S., McAllister, T.A., Aalhus, J.L., 2012. Beef quality attributes as affected by increasing the intramuscular levels of vitamin E and omega-3 fatty acids. *Meat Science* 90, 764-769.
- Kaneda, T., 1991. *Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance*. *Microbiological Reviews* 55, 288-302.
- Kanno, C., 1990. Secretory membranes of the lactating mammary gland. *Protoplasma* 159, 184-208.
- Kasapidou, E., Wood, J.D., Richardson, R.I., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Enser, M., 2012. Effect of vitamin E supplementation and diet on fatty acid composition and on meat colour and lipid oxidation of lamb leg steaks displayed in modified atmosphere packs. *Meat Science* 90, 908-916.
- Kaur, G., Cameron-Smith, D., Garg, M., Sinclair, A.J., 2011. Docosapentaenoic acid (22:5n-3): A review of its biological effects. *Progress in Lipid Research* 50, 28-34.
- Keeney, M., Katz, I., Allison, M.J., 1962. On the probable origin of some milk fat acids in rumen microbial lipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 39, 198-201.
- Keim, N.L., 2003. Conjugated linoleic acid and body composition. En: *Advances in conjugated linoleic acid research*. Vol. 2. (J.L. Sebedio, W.W. Christie, R. Adlof, eds.). pp. 316-324. AOCS Press, Champaign, Illinois (Estados Unidos).
- Kepler, C.R., Hiron, K.P., McNeill, J.J., Tove, S.B., 1966. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *The Journal of Biological Chemistry* 241, 1350-1354.
- Kernohan, E.A., Wadsworth, J.C., Lascelles, A.K., 1971. Changes in the composition of bovine milk fat during milking. *Journal of Dairy Research* 38, 65-68.
- Kesley, 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.

- Kim, J.Y., Park, H.D., Park, E.J., Chon, J.W., Park, Y.K., 2009. Growth-inhibitory and proapoptotic effects of alpha-linoleic acid on estrogen-positive breast cancer cells: Second look at n-3 fatty acid. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1171, 190-195.
- Kim, Y.J., Liu, R.H., Rychlik, J.L., Russell, J.B., 2002. The enrichment of a ruminal bacterium (*Megasphaera elsdenii* YJ-4) that produces the *trans-10,cis-12* isomer of conjugated linoleic acid. *Journal of Applied Microbiology* 92, 976-982.
- Kinsella, J.E., 1972. Stearoyl-CoA as a precursor of oleic acid and glycerolipids in mammary microsomes from lactating bovine: possible regulatory step in milk triglyceride synthesis. *Lipids* 7, 349-355
- Kitessa, S.M., Gulati, S.K., Ashes, J.R., Fleck, E., Scott, T.W., Nichols, P.D., 2001. Utilisation of fish oil in ruminants. II Transfer of fish oil fatty acids into goats' milk. *Animal Feed Science and Technology* 89, 201-208.
- Kitessa, S.M., Peake, D., Bencini, R., Williams, A.J., 2003. Fish oil metabolism in ruminants: III. Transfer of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) from tuna oil into sheep's milk. *Animal Feed Science and Technology* 108, 1-14.
- Kosulwat, S., Greenfield, H., James, J., 2003. Lipid composition of Australian retail lamb cuts with differing carcass classification characteristics. *Meat Science* 65, 1413-1420.
- Kouba, M., Mourot, J., 2011. A review of nutritional effects on fat composition of animal products with special emphasis on n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochimie* 93, 13-17.
- Kraft J., Collomb M., Möckel P., Sieber R., Jahreis G., 2003. Differences in CLA isomer distribution of cows' milk lipids. *Lipids* 38, 657-664.
- Kris-Etherton, P.M., 1999. Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 100, 1253-1258.
- Kukuk O., Hess B.W., Ludden P.A., Rule D.C., 2001. Effect of forage/concentrate ratio on ruminal digestion and duodenal flow of fatty acids in ewes. *Journal of Animal Science* 79, 2233- 2240.
- 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.
- Lanza, M., Bella, M., Priolo, A., Barbagallo, D., Galofaro, V., Landi, C., Pennisi, P., 2006. Lamb meat quality as affected by a natural or artificial milk feeding regime. *Meat Science* 73, 313-318.
- Larsen, R., Eilertsen, K.E., Elvevoll, E.O., 2011. Health benefits of marine foods and ingredients. *Biotechnology Advances* 29, 508-518.
- Larsson, S.C., Bergkvist, L., Wolk, A., 2005. High-fat dairy food and conjugated linoleic acid intakes in relation to colorectal cancer incidence in the Swedish Mammography Cohort. *The American Journal of Clinical Nutrition* 82, 894-900.
- Lauridsen, C., Engel, H., Craig, A.M., Traber, M.G., 2002. Relative bioactivity of dietary RRR- and all-rac-alpha-tocopheryl acetates in swine assessed with deuterium-labeled vitamin E. *Journal of Animal Science* 80, 702-707.
- Lauzurica, S., de la Fuente, J., Díaz, M.T., Álvarez, I., Pérez, C., Cañeque, V., 2005. Effect of dietary supplementation of vitamin E on characteristics of lamb meat packed under modified atmosphere. *Meat Science* 70, 639-646.
- Leedle, R.A., Leedle, J.A.Z., Butine, M.D., 1993. Vitamin E is not degraded by ruminal microorganisms: Assessment with ruminal contents from a steer fed a highconcentrate diet. *Journal of Animal Science* 71, 3442-3450.
- Legrand, P., 2008. Intérêt nutritionnel des principaux acides gras des lipides laitiers. *Sciences des Aliments* 28, 34-43.
- Lewis, G.S., Wulster-Radcliff, M.C., Herbeinc, J.H., 2008. Fatty acid profiles, growth, and immune responses of neonatal lambs fed milk replacer and supplemented with fish oil or safflower oil. *Small Ruminant Research* 79, 167-173.
- Lin, X., Bo, J., Oliver, S.A.M., Corl, B.A., Jacobi, S.K., Oliver, W.T., Harrell, R.J., Odle, J., 2011. Dietary conjugated linoleic acid alters long chain polyunsaturated fatty acid metabolism in brain and liver of neonatal pigs. *Journal of Nutritional Biochemistry* 22, 1047-1054.
- Link, B.A., Bray, A.R., Cassens, R.G., Kauffman, R.G., 1970. Lipid deposition in bovine skeletal muscle during growth. *Journal of Animal Science* 30, 6-9.
- Liu, Q., Lanari, M.C., Schaefer, D.M., 1995. A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *Journal of Animal Science* 73, 3131-3140.

- 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.
- Loor, J.J., Bandara, A.B.P.A., Herbein, J.H., 2002. Characterization of 18:1 and 18:2 isomers produced during microbial biohydrogenation of unsaturated fatty acids from canola and soya bean oil in the rumen of lactating cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 86, 422-432.
- Lopez-Bote, C.J., Daza, A., Soares, M., Berges, E., 2001. Dose-response effect of dietary vitamin E concentration on meat quality characteristics in light-weight lambs. *Animal Science* 73, 451-457.
- Lopez-Garcia, E., Schulze, M.B., Meigs, J.B., Manson, J.E., Rifai, N., Stampfer, M.J., 2005. Consumption of trans fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction. *Journal of Nutrition* 135, 562-566.
- Lopez-Miranda, J., Pérez-Jiménez, F., Ros, E., De Caterina, R., Badimón, L., Covas, M.I., Escrich, E., Ordovás, J.M., et al., 2008. Olive oil and health: summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaen and Cordoba (Spain) 2008. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 20, 284-294.
- Luna, P., Fontecha, J., Juárez, M., de la Fuente, M.A., 2005. Conjugated linoleic acid in ewe milk. *Journal of Dairy Research* 72, 415-424.
- Luna, P., Rodriguez-Pino, V., de la Fuente, M.A., 2009. Occurrence of C16:1 isomers in milk fats from ewes fed with different dietary lipid supplements. *Food Chemistry* 117, 248-253.
- Lurueña-Martínez, M.A., Palacios, C., Vivar-Quintana, A.M., Revilla, I., 2010. Effect of the addition of calcium soap to ewes' diet on fatty acid composition of ewe milk and subcutaneous fat of suckling lambs reared on ewe milk. *Meat Science* 84, 677-683.
- Maier, S., Reich, E., Martin, R., Bachem, M., Altug, V., Hautman, R.E., Gschwend, J.E., 2000. Tributyrin induces differentiation, growth arrest and apoptosis in androgen-sensitive and androgen-resistant human prostate cancer cell lines. *International Journal of Cancer* 88, 245-251.
- Maiorano, G., Cavone, C., McCormick, R.J., Ciarlariello, A., Gambacorta, M., Manchisi, A., 2007. The effect of dietary energy and vitamin E administration on performance and intramuscular collagen properties of lambs. *Meat Science* 76, 182-188.
- Makkar, H.P.S., 2001. Chemical protein precipitation and bioassays for tannins, effects and fate of tannins and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannins-rich feeds. En: *IX FAO-CIHEAM Meeting on sheep and goat nutrition, nutrition and feeding strategies of sheep and goats under harsh climates*, Hammamet (Tunisia), 8-10 November. pp. 40-41. Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie, INRAT (Tuniz).
- Malone, J.I., 1975. Vitamin passage across the placenta. *Clinics in Perinatology* 2, 295-307.
- Manso, T., Bodas, R., Castro, T., Jimeno, V., Mantecon, A.R., 2009. Animal performance and fatty acid composition of lambs fed with different vegetable oils. *Meat Science* 83, 511-516.
- Manso, T., Bodas, R., Vieira, C., Mantecon, A.R., Castro, T., 2011. Feeding vegetable oils to lactating ewes modifies the fatty acid profile of suckling lambs. *Animal* 5, 1659-1667.
- Marchello, J.A., Cramer, D.A., Miller, L.G., 1967. Effects on ambient temperature on certain ovine fat characteristics. *Journal of Animal Science* 26, 294-297.
- Martínez-Cerezo, S., Sañudo, C., Panea, B., Olleta, J. L., 2005. Breed, slaughter weight and ageing time effects on consumer appraisal of three muscles of lamb. *Meat Science* 69, 797-805.
- Mattson, F.H., Grundy, S.M., 1985. Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *The Journal of Lipid Research* 26, 194-202.
- 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., 2001. Effect of weaning system on commercial milk production and lamb growth of East Friesian dairy sheep. *Journal of Dairy Science* 84, 1660-1668.
- 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.
- Mele, M., Buccioni, A., Petacchi, P., Serra, A., Banni, S., Antogiovanni, M., Secchiari, P., 2006. Effect of forage/concentrate ratio and soybean oil supplementation on milk yield, and composition from Sarda ewes. *Animal Research* 55, 273-285.
- Mele, M., Macciotta, N.P.P., Serra, A., Pollicardo, A., Secchiari, P., 2007. Fatty acid composition of milk and cheese from sheep rough or cultivated pasture. En: *Proceedings of the 5th International Symposium on the Challenge to Sheep and Goats Milk Sectors*, Alghero, Italy. pp. 325-327. International Dairy Federation, Brussels (Bélgica).
- Mele, M., 2009. Designing milk fat to improve healthfulness and functional properties of dairy products: from feeding strategies to a genetic approach. *Italian Journal of Animal Science* 8, 365-373.
- Mele, M., Contarini, G., Cercaci, L., Serra, A., Buccioni, A., Povolo, M., Conte, G., Funaro, A., Banni, S., Lercker, G., Secchiari, P., 2011. Enrichment of Pecorino cheese with conjugated linoleic acid by feeding dairy ewes with extruded linseed: Effect on fatty acid and triglycerides composition and on oxidative stability. *International Dairy Journal* 21, 365-372.
- Melton, S.L., 1990. Effects of feeds on flavour of red meat: a review. *Journal of Animal Science* 68, 4421-4435.
- Mens, P.L., 1985. Propriétés physico-chimiques nutritionnelles et chimiques (physico-chemical nutritional and chemical properties). En: *Laits et produits laitiers. Vache. Brevis. Chèvre (Milk and milk products from cows, sheep and goats), vol.I.* (F.M. Luquet, ed.). pp. 349-367. Apria, Paris (Francia).
- Mensink, R.P., 2005. Effects of stearic acid on plasma lipid and lipoproteins in humans. *Lipids* 40, 1201-1205.
- Mente, A., Konning, L., Shannon, H., Anand, S., 2009. A systematic review of the evidence supporting a causal link between dietary factors and coronary heart disease. *Archives of Internal Medicine* 169, 659-669.
- Mesa, M.D., Aguilera, C.M., Linde, J., Ramirez, M.C., Gil, A., 2005. Lípidos como alimentos funcionales. En: *Alimentos funcionales.* (M. Juárez, A. Olano, F. Morais, eds.). pp. 146-173. Fundación española para la ciencia y la tecnología, Madrid (España).
- Meyer, B.J., 2011. Are we consuming enough long chain omega-3 polyunsaturated fatty acids for optimal health? Prostaglandins *Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 85, 275-280.
- Miari, S., Sechi, T., Usai, M.G., Casula, M., Casu, S., Carta, A., 2007. Do polymorphisms at the Scd gene affect the C18:2 cis 9 trans 11 content in sheep milk fat? En: *Proceedings of the II international congress on conjugated linoleic acid (CLA): from experimental models to human application*, Villasimius, Italy. pp. 19-22. Villasimius (Italia).
- Micha, R., Mozaffarian, D., 2010. Saturated fat and cardiometabolic risk factors, coronary heart disease, stroke, and diabetes: a fresh look at the evidence. *Lipids* 45, 893-905.
- Miguélez, E., Zumalacárregui, J.M., Osorio, M.T., Figueira, A.C., Fonseca, B., Mateo, J., 2008. Quality traits of suckling-lamb meat covered by the protected geographical indication "Lechazo de Castilla y León" European quality label. *Small Ruminant Research* 77, 65-70.
- Mills, S.C., Cook, L.J., Scott, T.W., 1976. Effect of dietary fat supplementation on the composition and positional distribution of fatty acids in ruminant and porcine glycerides. *Lipids* 11, 49-60.
- Moibi, J.A., Christopherson, R.J., 2001. Effect of environmental temperature and a protected lipid supplement on the fatty acid profile of ovine longissimus dorsi muscle, liver and adipose tissues. *Livestock Production Science* 69, 245-254.
- Moioli, B., Contarini, G., Pariset, L., Marchitelli, C., Cris  , A., Catillo, G., Napolitano, F., 2012. Genetic variation of C18:1 and C18:2 isomers in sheep milk fat. *Small Ruminant Research* 103, 187-193.
- Molkentin, J., 2000. Occurrence and biochemical characteristics of natural bioactive substances in bovine milk lipids. *British Journal of Nutrition* 84, 47-53.
- Moloney, A.P., Kennedy, C., Noci, F., Monahan, F.J., Kerry, J.P., 2012. Lipid and colour stability of M. longissimus muscle from lambs fed camelina or linseed as oil or seeds. *Meat Science* 92, 1-7.
- Mon r, J., 2007. *The Spanish functional food market: Present and future perspectives.* Functional FoodNet (FFNet) network meeting, IATA-CSIC. Valencia (España).

- Muñoz Quezada, S., Gómez Llorente, C., Gil Hernández, A., 2010. Compuestos bioactivos de los alimentos de origen vegetal y obesidad. *Nutrición Clínica en Medicina* 4, 138-152.
- Murphy, T.A., Loerch, S.C., Mc Clure, K.E., Solomon, M.B., 1994a. Effects of restricted feeding on growth performance and carcass composition of lambs subjected to different nutritional treatments. *Journal of Animal Science* 72, 3131-3137.
- Murphy, T.A., Loerch, S.C., McClure, K.E., Solomon, M.B., 1994b. Effects of grain or pasture finishing systems on carcass composition and tissue accretion rates of lambs. *Journal of Animal Science* 72, 3138-3144.
- Nakamura, M.T., Nara, T.Y., 2004. Structure, function and dietary regulation of D6, D5 and D9 desaturases. *Annual Review of Nutrition* 24, 345-376.
- Napolitano, F., Cifuni, G.F., Pacelli, C., Riviezz, A.M., Girolami, A., 2002. Effect of artificial rearing on lamb welfare and meat quality. *Meat Science* 60, 307-315.
- Negrao, J.A., Marnet, P.G., Labussière, J., 2001. Effect of milking frequency on oxytocin release and milk production in dairy ewes. *Small Ruminant Research* 39, 181-187.
- Njeru, C.A., McDowell, L.R., Wilkinson, N.S., Linda, S.B., Williams, S.N., 1994. Pre- and postpartum supplemental DL- α -tocopheryl acetate effects on placental and mammary vitamin E transfer in sheep. *Journal of Animal Science* 72, 1636-1640.
- Nudda, A., Mele, M., Battacone, G., Usai, M.G., Macciotta, N.P.P., 2003. Comparison of conjugated linoleic acid (CLA) content in milk of ewes and goats with the same dietary regimen. *Italian Journal of Animal Science* 2, 515-517.
- Nudda, A., McGuire, M.A., Battacone, G., Pulina, G., 2005. Seasonal variation in conjugated linoleic acid and vaccenic acid in milk fat of sheep and its transfer to cheese and ricotta. *Journal of Dairy Science* 88, 1311-1319.
- Nudda, A., Battacone, G., Usai, M.G., Fancellu, S., Pulina, G., 2006. Supplementation with extruded linseed cake affects concentrations of conjugated linoleic acid and vaccenic acid in goat milk. *Journal of Dairy Science* 89, 277-282.
- Nudda, A., Palmquist, D.L., Battacone, G., Fancellu, S., Rattu, S.P.G., Pulina, G., 2008. Relationships between the contents of vaccenic acid, CLA and n - 3 fatty acids of goat milk and the muscle of their suckling kids. *Livestock Science* 118, 195-203.
- Nute, G.R., Richardson, R.I., Wood, J.D., Hughes, S.I., Wilkinson, R.G., Cooper, S.L., Sinclair, L.A., 2007. Effect of dietary oil source on the flavour and the colour and lipid stability of lamb meat. *Meat Science* 77, 547-555.
- Nürnberg, K., Wegner, J., Ender, K., 1998. Factors influencing fat composition in muscle and adipose tissue of farm animals. *Livestock Production Science* 56, 145-156.
- 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.
- Offer, N.W., Marsden, M., Dixon, J., Speake, B.K., Thacker, F.E., 1999. Effect of dietary fat supplements on levels of n-3 polyunsaturated fatty acids, trans acids and conjugated linoleic acid in bovine milk. *Animal Science* 69, 613-625.
- Offer, N.W., Speake, B.K., Dixon, J., Marsden, M., 2001. Effect of fish oil supplementation on levels of (n-3) polyunsaturated fatty acids in the lipoprotein fractions of bovine plasma. *Animal Science* 73, 523-531.
- 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.
- Osmundsen, H., Bremer, J., Pedersen, J.I., 1991. Metabolic aspects of peroxisomal β -oxidation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1085, 141-158.
- Osorio, M.T., Zumalacárregui, J.M., Mateo, J., 2003. Influencia de la alimentación con leche materna o lactoreemplazantes en las características de la carne de lechales de la raza Churra. *FEAGAS* 24, 81-84.
- Osorio, M.T., Zumalacárregui, J.M., Figueira, A., Mateo, J., 2007a. Physicochemical properties of perirenal and omental fat from suckling lamb carcasses evaluated according to the type of milk source. *Small Ruminant Research* 72, 111-118.

- Osorio, M.T., Zumalacarregui, J.M., Figueira, A., Mateo, J., 2007b. Fatty acid composition in subcutaneous, intermuscular and intramuscular fat deposits of suckling lamb meat: Effect of milk source. *Small Ruminant Research* 73, 127-134.
- Palmquist, D.L., St-Pierre, N., McClure, K.E., 2004. Tissue fatty acid profiles can be used to quantify endogenous rumenic acid synthesis in lambs. *Journal of Nutrition* 134, 2407-2414.
- 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).
- Palmquist, D.L. 2006. Milk fat: Origin of fatty acids and influence of nutritional factors thereon. In: *Advanced Dairy Chemistry, Vol. 2, Lipids.* (P.F. Fox and P.L.H. McSweeney, eds.). pp 43-92. Springer, New York (United States of America).
- Papachristoforou, C., 1990. The effects of milking method and postmilking suckling on ewe milk production and lamb growth. *Annales de Zootechnie* 39, 1-8.
- Pariza, M.W., Park, Y., Cook, M.E., 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research* 40, 283-298.
- Park Y., Storkson J.M., Albright K.J., Liu W., Pariza M.W., 1999. Evidence that the *trans-10, cis-12* isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. *Lipids* 34, 235-241.
- Park, Y., Pariza, M.W., 2007. Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). *Food Research International* 40, 311-323.
- Park, Y., 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.W., 1977. Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. *Journal of Dairy Science* 60, 1550-1553.
- Parodi, P.W., 2004. Milk fat in human nutrition. *Australian Journal of Dairy Technology* 59, 3-59.
- Parodi, P.W., 2009a. Has the association between saturated fatty acids, serum cholesterol and coronary heart disease been over emphasized? *International Dairy Journal* 19, 345-361.
- Parodi, P.W., 2009b. Milk fat nutrition. En: *Dairy fats and related products.* (A.Y. Tamime ed.). pp. 28-51. Wiley-Blackwell, Oxford (Reino Unido).
- Peaker, M. 1977. *Comparative aspects of lactation.* Academic Press, London (Reino Unido).
- Peiretti, P.G., 2012. Effects of dietary fatty acids on lipid traits in the muscle and perirenal fat of growing rabbits fed mixed diets. *Animals* 2, 55-67.
- Pérez, P., Maino, M., Tomic, G., Mardones, E., Pokniak, J., 2002. Carcass characteristics and meat quality of Suffolk Down suckling lambs. *Small Ruminant Research* 44, 233-240.
- Pestana, J.M., Costa, A.S.H., Alves, S.P., Martins, S.V., Alfaia, C.M., Bessa, R.J.B., Prates, J.A.M., 2012. Seasonal changes and muscle type effect on the nutritional quality of intramuscular fat in Mirandesa-PDO veal. *Meat Science* 90, 819-827.
- Phang, M., Garg, M.L., Sinclair, A.J., 2008. Inhibition of platelet aggregation by omega-3 polyunsaturated fatty acids is gender specific-redefining platelet response to fish oils. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 81, 35-40.
- Piperova, L.S., Sampugna, J., Teter, B.B., Kalscheur, K.F., Yurawecz, M.P., Ku, Y., Morehouse, K.M., Erdman, R.A., 2002. Duodenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of *cis-9* containing CLA in lactating dairy cows. *Journal of Nutrition* 132, 1235-1241.
- Piredda, G., Banni, S., Carta, G., Pirisi, A., Addis, M., Molle, G., 2002. Influenza dell'alimentazione al pascolo sui livelli di acido rumenico in latte e formaggio ovino. *Progress in Nutrition* 4, 231-235.
- Ponnampalam, E.N., Butler, K.L., McDonagh, M.B., Jacobs, J.L., Hopkins, D.L., 2012. Relationship between muscle antioxidant status, forms of iron, polyunsaturated fatty acids and functionality (retail colour) of meat in lambs. *Meat Science* 90, 297-303.
- 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.
- Pulina, G., Nudda, A., 2002. Milk production. En: *Dairy sheep feeding and nutrition.* (G. Pulina, G. ed.). pp. 11-27. Avenue Media, Bologna (Italia).

- 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.
- Pulina, G., Nudda, A., Battacone, G., Fancellu, S., Francesconi, A.H.D., 2008. Nutrition and quality of goat's milk. En: *Dairy goats feeding and nutrition*. (A. Cannas, G. Pulina, eds.). pp. 1-30. CAB International, Oxfordshire (Reino Unido).
- Raes, K., De Smet, S., Demeyer, D., 2004. Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Animal Feed Science and Technology* 113, 199-221.
- Rajakangas, J., Basu, S., Salminen, I., Mutanen, M., 2003. Adenoma growth stimulation by the *trans-10, cis-12* isomer of conjugated linoleic acid (CLA) is associated with changes in mucosal NF-kappaB and cyclin D1 protein levels in the Min mouse. *Journal of Nutrition* 133, 1943-1948.
- Reglamento (CE) n° 107/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo de 15 de enero de 2008, por el que se modifica el Reglamento (CE) no 1924/2006 relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos por lo que se refiere a las competencias de ejecución atribuidas a la Comisión. *Diario Oficial de la Unión Europea*, n° L39/8-10, de 13 de febrero de 2012.
- Reglamento (CE) n° 109/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo de 15 de enero de 2008 por el que se modifica el Reglamento (CE) no 1924/2006 relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. *Diario Oficial de la Unión Europea*, n° L39/14-15, de 13 de febrero de 2012.
- Reglamento (CE) n° 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de diciembre de 2006, relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en alimentos. *Diario Oficial de la Unión Europea*, n° L404/9-25, de 30 de diciembre de 2006.
- Reglamento (CEE) n° 2137/92, del Consejo, de 23 de Julio de 1992 relativo al modelo comunitario de clasificación de canales de ovino y se determina la calidad tipo Comunitaria de las canales de ovino frescas o refrigeradas y por el que se prorroga el Reglamento (CEE) n° 338/91. *Diario Oficial de la Unión Europea*, n° L214/1-5, de 30 de julio de 1992.
- Reglamento (UE) n° 116/2010 de la Comisión de 9 de febrero de 2010 por el que se modifica el Reglamento (CE) n o 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a la lista de declaraciones nutricionales. *Diario Oficial de la Unión Europea*, n° L37/16-18, de 10 de febrero de 2010.
- Rhee, K.S., 1992. Fatty acids in meat and meat products. En: *Fatty acids in foods and their health implications*. (K. Chow, C.M. Dekker, eds.). pp. 65-93. Inc. New York (Estados Unidos).
- Ripoll, G., González-Calvo, L., Molino, F., Calvo, J.H., Joy, M., 2013. Effects of finishing period length with vitamin E supplementation and alfalfa grazing on carcass color and the evolution of meat color and the lipid oxidation of light lambs. *Meat Science* 93, 906-913.
- Ripoll, G., Joy, M., Muñoz, F., 2011. Use of dietary vitamin E and selenium (Se) to increase the shelf life of modified atmosphere packaged light lamb meat. *Meat Science* 87, 88-93.
- Robertfroid, M.B., 1996. Functional effects of food components and the gastrointestinal system: chicory fructooligosaccharides. *Nutrition Reviews* 11, 38-42.
- Rodríguez, A.B., 2005. *Alternativas a los sistemas actuales de alimentación en el cebo intensivo de corderos: Efecto de la supresión de la paja de la ración y la utilización de cereal en grano sobre la ingestión, el crecimiento y las características de la canal y de la carne*. Tesis Doctoral. Universidad de León.
- Rojo Martínez, G., García Escobar, E., Aranda, J.J., Oliveira, G., García Fuentes, E., Morcillo, S., Cardona, F., Garrido, L., Gómez Zumaquero, J.M., Soriguer, F., 2005. La proporción de oleico en la dieta correlacionada con la actividad lipolítica de los adipocitos en cultivo y con la concentración de grasa de los tejidos. *Nutricion Hospitalaria* 20, 197-211.
- Ros, E., 2003. Dietary *cis*-monounsaturated fatty acids and metabolic control in type 2 diabetes. *American Journal of Clinical Nutrition* 78, 617-625.
- Roy, A., Chardigny, J.M., Bauchart, D., Ferlay, A., Lorenz, S., Durand, D., Gruffat, D., Faulconnier, Y., Sédébio, J.L., Chilliard, Y., 2007. Butters rich either in *trans-10-C18:1* or in *trans-11-C18:1* plus *cis-9, trans-11 CLA* differentially affect plasma lipids and aortic fatty streak in experimental atherosclerosis in rabbits. *Animal* 1, 467-476.

- Salvatori, G., Pantaleo, L., Di Cesare, C., Maiorano, G., Filetti, F., Oriani, G., 2004. Fatty acid composition and cholesterol content of muscles as related to genotype and vitamin E treatment in crossbred lambs. *Meat Science* 67, 45-55.
- Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B., Santos-Silva, F., 2002. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: II. Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science* 77, 187-194.
- Sañudo, C., Sánchez, A., Alfonso, M., 1998. Small ruminant production systems and factors affecting lamb meat quality. *Meat Science* 49, 29-64.
- Sañudo, C., Alfonso, M., Sanchez, A., Delfa, R., Teixeira, A., 2000. Carcass and meat quality in light lambs from different fat classes in the EU carcass classification system. *Meat Science* 56, 89-94.
- Sanz Sampelayo, M.R., Fernandez, J.R., Ramos, E., Hermoso, R., Extremera, F.G., Boza, J., 2006. Effect of providing a polyunsaturated fatty acid-rich protected fat to lactating goats on growth and body composition of suckling goat kids. *Animal Science* 82, 337-344.
- 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.
- Sauvant, D., Bas, P., Morand-Fehr, P., 1979. Production de chevreaux lourds: II. Influence du niveau d'ingestion de lait et du tissu adipeux. *Annales de Zootechnie* 28, 73-92.
- Scerra, M., Caparra, P., Foti, F., Galofaro, V., Sinatra, M.C., Scerra, V., 2007. Influence of ewe feeding systems on fatty acid composition of suckling lambs. *Meat Science* 76, 390-394.
- Schaefer, E.J., Bongard, V., Beiser, A.S., Lamon-Fava, S., Robins, S.J., Au, R., 2006. Plasma phosphatidylcholine docosahexaenoic acid content and risk of dementia and Alzheimer disease: the Framingham heart study. *Archives of Neurology* 63, 1545-1550.
- 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.
- Schmid, A., Collomb, M., Sieber, R., Bee, G., 2006. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: a review. *Meat Science* 73, 29-41
- Schmidely, D., Sauvant, D., 2001. Taux butyreux et composition de la matière grasse du lait chez les petits ruminants: effets de l'apport de matières grasses ou d'aliment concentré (Fat content yield and composition of milk in small ruminants: effects of concentrate level and addition of fat). *Inra Productions Animales* 14, 337-354.
- Schrezenmeir, J., Korhonen, H., Williams, C., Gill, H., Shah, N., 2000. Foreword. *British Journal of Nutrition* 84, Suppl. 1, S1.
- Scollan, N.D., Hocquette, J.F., Nuernberg, K., Dannenberger, D., Richardson, R.I., Maloney, A., 2006. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Science* 74, 17-33.
- Secchiari, P.M., Mele, A., Serra, A., Buccioni, M., Antongiovanni, G., Ferruzzi, F., Paoletti, Andreotti, L., 2001. Conjugated linoleic acid (CLA) content in milk of three dairy sheep breeds. *Progress in Nutrition* 3, 37-42.
- Shahidi, F., 2002. Nutraceuticals and functional foods: Research addresses bioactive components. *Food Technology* 56, 23.
- Shimizu, T., 2003. Health claims on functional foods: the Japanese regulations and an international comparison. *Nutrition research reviews* 16, 241-252.
- Shingfield, K.J., Reynolds, C.K., Lupoli, B., Toivonen, V., Yurawecz, M.P., Delmonte, P., Griinari, J.M., Grandison, A.S., Beever, D.E., 2005. Effect of forage type and proportion of concentrate in the diet on milk fatty acid composition in cows given sunflower oil and fish oil. *Animal Science* 80, 225-238.
- Shingfield, K.J., Reynolds, C.K., Hervás, G., Griinari, J.M., Grandison, A.S., Beever, D.E., 2006. Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89, 714-732.
- Shingfield, K.J., Griinari, J.M., 2007. Role of biohydrogenation intermediates in milk fat depression. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 799-816.
- Shingfield, K.J., Chilliard, Y., Toivonen, V., Kairenius, P., Givens, D.I., 2008. Trans fatty acid and bioactive lipids in ruminant milk. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 606, 3-65.

- 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.
- Simopoulos, A.P., 1999. New products from the agri-food industry: The return of n-3 fatty acids into the food supply. *Lipids* 34, 297-301.
- Simopoulos, A.P., 2008. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine* 233, 674-688.
- Siri-Tarino, P.W., Sun, Q., Hu, F.B., Krauss, R.M., 2010. Meta-analysis of prospective cohort studies evaluating the association of saturated fat with cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition* 91, 535-546.
- Smith, S., 1994. The animal fatty acid synthase: one gene, one polypeptide, seven enzymes. *The FASEB Journal* 8, 1248-1259.
- Spencer, L., Mann, C., Metcalfe, M., Webb, M., Pollard, C., Spencer, D., Berry, D., Steward, W., Dennison, A., 2009. The effect of omega-3 FAs on tumour angiogenesis and their therapeutic potential. *European Journal of Cancer* 45, 2077-2086.
- Sprecher, H., Luthria, D.L., Mohammed, B.S., Baykousheva, S.P., 1995. Reevaluation of the pathways for the biosynthesis of polyunsaturated fatty acids. *The Journal of Lipid Research* 36, 2471-2477.
- Stachowska, E., Dolegowska, B., Chlubek, D., Wesolowska, T., Ciechanowski, K., Gutowski, P., Szumilowicz, H., Turowski, R., 2004. Dietary trans fatty acids and composition of human atheromatous plaques. *European Journal of Nutrition* 43, 313-318.
- Sutton, J.D., 1976. Energy supply from the digestive tract. En: *Principles of cattle production*. (H. Swan, W.H. Brooster, eds.) pp. 121-142. Butterworths, London (Reino Unido).
- Szumacher-Strabel, M., Cieslak, A., Nowakowska, A., Potkanski, A., 2008. The effect of rapeseed oil and a combination of linseed and fish oils in the diets for sheep on milk fatty acid profile. *Zuchungskunde* 80, 412-419.
- Tanmahasamut, P., Liu, J., Hendry, L.B., Sidell, N., 2004. Conjugated linoleic acid blocks estrogen signalling in human breast cancer cells. *Journal of Nutrition* 134, 674-680.
- Teixeira, A., Batista, S., Delfa, R., Cadavez, V., 2005. Lamb meat quality of two breeds with protected origin designation. Influence of breed, sex and live weight. *Meat Science* 71, 530-536.
- Thomas, P.R., Earl, R., 1994. Enhancing the food supply. En: *Opportunities in the nutrition and food sciences*. (P.R. Thomas, R. Earl, eds.) pp. 98-142. National Academy Press, Washington DC (Estados Unidos).
- Timmen, H., Patton, S., 1988. Milk fat globules: fatty acid composition, size, and in vivo regulation of fat liquidity. *Lipids* 23, 685-689.
- Toral, P.G., Hervás, G., Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Juárez, M., de la Fuente, M.A., 2010a. 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.
- Toral, P.G., Frutos, P., Hervás, G., Gómez-Cortés, P., Juárez, M., de la Fuente, M.A., 2010b. 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.
- Tricon, S., Burdge, G.C., Kew, S., Banerjee, T., Russell, J.J., Grimble, R.F., Williams, C.M., Calder, P.C., Yaqoob, P., 2004. Effects of *cis-9*, *trans-11* and *trans-10*, *cis-12* conjugated linoleic acid on immune cell function in healthy humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80, 1626-1633.
- Tsiplakou, E., Mountzouris, K.C., Zervas, G., 2006a. The effect of breed, stage of lactation and parity on sheep milk fat CLA content under the same feeding practices. *Livestock Science* 105, 162-167.
- Tsiplakou, E., Mountzouris, K.C., Zervas, G., 2006b. Concentration of conjugated linoleic acid in grazing sheep and goat milk fat. *Livestock Science* 103, 74-84.
- Tsiplakou, E., Kominakis, A., Zervas, G., 2008. The interaction between breed and diet on CLA and fatty acids content of milk fat of four sheep breeds kept indoors or at grass. *Small Ruminant Research* 74, 179-187.

- Turpeinen, A.M., Ylonen, N., Von Willebrand, E., Basu, S., Aro, A., 2008. Immunological and metabolic effects of *cis-9, trans-11* conjugated linoleic acid in subjects with birch pollen allergy. *British Journal of Nutrition* 100, 112-119.
- Uauy, R., Aro, A., Clarke, R., Ghafoorunissa, R., L'Abbe, M., Mozaffarian, D., Skeaff, M., Stender, S., Tavella, M., 2009. WHO Scientific update on *trans* fatty acids: summary and conclusions. *European Journal of Clinical Nutrition* 63, 68-75.
- Ulberth, F., Henniger, M., 1994. Quantification of *trans* fatty acids in milk fat using spectroscopic and chromatographic methods. *Journal of Dairy Research* 61, 517-527.
- Vacca, G.M., Carcangiu, V., Dettori, M.L., Pazzola, M., Mura, M.C., Luridiana, S., Tilloca, G., 2008. Productive performance and meat quality of Mouflon x Sarda and Sarda x Sarda suckling lambs. *Meat Science* 80, 326-334.
- Vagni, S., Saccone, F., Pinotti, L., Baldi, A., 2011. Vitamin E Bioavailability: Past and Present Insights. *Food and Nutrition Sciences* 2, 1088-1096.
- Van, Q.C.D., Focant, M., Mignolet, E., Turu, C., Froidmont, E., Larondelle, Y., 2011. Influence of the diet structure on ruminal biohydrogenation and milk fatty acid composition of cows fed extruded linseed. *Animal Feed Science and Technology* 169, 1-10.
- Velasco, S., Lauzurica, S., Cañeeque, V., Perez, C., Ruiz De Huidobro, F., Manzanares, C., Diaz, M.T., 2000. Carcass and meat quality of Talaverana breed sucking lambs in relation to gender and slaughter weight. *Animal Science* 70, 253-263.
- Vlaeminck, B., Fievez, V., Cabrita, A.R.J., Fonseca, A.J.M., Dewhurst, R.J., 2006. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. *Animal Feed Science and Technology* 131, 389-417.
- Wachira, A.M., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Enser, M., Wood, J.D., Fisher, A.V., 2002. Effects of dietary fat source and breed on the carcass composition, n-3 polyunsaturated fatty acid and conjugated linoleic acid content of sheep meat and adipose tissue. *British Journal of Nutrition* 88, 697-709.
- Wahle, K.W.J., Patterson, S.M., Garton, G.A., 1978. Biosynthesis of branched-chain fatty acids by preparations from bovine adipose tissue. *Biochemical Social Transactions* 6, 1157-1158.
- Wahle, K.W.J., Heys, S.D., Rotondo, D., 2004. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Progress in Lipid Research* 43, 553-587.
- Wallace, R.J., McKain, N., Shingfield, K.J., Devillard, E., 2007. Isomers of conjugated linoleic acids are synthesized via different mechanisms in ruminal digesta and bacteria. *Journal of Lipid Research* 48, 2247-2254.
- Waters, D.D., 2010. Exploring new indications for statins beyond atherosclerosis: Successes and setbacks. *Journal of Cardiology* 55, 155-162.
- 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.
- WHO, 2003. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a joint WHO/FAO expert consultation. En: *World Health Organization Technical Reports Series*. Vol. 916. World Health Organization, Geneva (Suiza).
- Wilburn, E.E., Mahan, D.C., Hill, D.A., Shipp, T.E., Yang, H., 2008. An evaluation of natural (RRR- α -tocopheryl acetate) and synthetic (all-rac- α -tocopheryl acetate) vitamin E fortification in the diet or drinking water of weanling pigs. *Journal of Animal Science* 86, 584-591.
- Wilches, D., Rovira, J., Jaime, I., Palacios, C., Lurueña-Martinez, M.A., Vivar-Quintana, A.M., Revilla, I., 2011. Evaluation of the effect of a maternal rearing system on the odour profile of meat from suckling lamb. *Meat Science* 88, 415-423.
- Williams, K.J., 2012. What does HDL do? A new mechanism to slow atherogenesis-But a new problem in type 2 diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 225, 36-38.
- Williams, C.M., Burdge, G., 2006. Long-chain n-3 PUFA: plant vs. marine sources. *Proceedings of the Nutrition Society* 65, 42-50.
- Williams, E.A., Coxhead, J.M., Mathers, J.C., 2003. Anti-cancer effects of butyrate: Use of micro-array technology to investigate mechanisms. *Proceeding of the Nutrition Society* 62, 107-115.
- Wolter, F., Stein, J. 2002. Biological activities of resveratrol and its analogs. *Drugs Future* 27, 949-960.

- Wood, J.D., 1984. Fat deposition and the quality of fat tissue in meat animals. En: Fats in animal nutrition. (J.W. Wisseman, ed.) pp. 407-435. Butterworths, London (Reino Unido).
- Wood, J.D., Richardson, R.I., Nute, G.R., Fisher, A.V., Campo, M.M., Kasapidou, E., Sheard, P., Enser, M., 2003. Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science* 66, 21-32.
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I., Whittington, F.M., 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science* 78, 343-358.
- Wood, R. 1979. Incorporation of dietary *cis* and *trans* octadecenoate isomers in the lipid classes of various rat tissues. *Lipids* 14, 975-982.
- Woods, V.B., Fearon, A.M., 2009. Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: A review. *Livestock Science* 126, 1-20.
- Wulf, D.M., Morgan, J.B., Sanders, S.K., Tatum, J.D., Smith, G. C., Williams, S., 1995. Effects of dietary supplementation of vitamin E on storage and caselife properties of lamb retail cuts. *Journal of Animal Science* 73, 399-405.
- Yang, H., Mahan, D.C., Hill, D.A., Shipp, T.E., Radke, T.R., Cecava, M.J., 2009. Effect of vitamin E source, natural versus synthetic, and quantity on serum and tissue alpha-tocopherol concentrations in finishing swine. *Journal of Animal Science* 87, 4057-4063.
- Yang, Z., Liu, S., Chen, X., Chen, H., Huang, M., Zheng, J., 2000. Induction of apoptotic cell death and in vivo growth inhibition of human cancer cells by a saturated branched-chain fatty acid, 13-methyltetradecanoic acid. *Cancer Research* 60, 505-509.
- Zened, A., Troegeler-Meynadier, A., Najar, 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.
- Zervas, G., Hadjigeorgiou, I., Zabeli, G., Koutsotolis, K., Tsiala, C., 1999a. Comparison of a grazing-with an indoor-system of lamb fattening in Greece. *Livestock Production Science* 61, 245-251.
- Zervas, G., Zarkadas, L., Koutsotolis, K., Goulas, C., Mantzios, A., 1999b. The effect of altering the hay to concentrate ratio and concentrate composition on the rumen fermentation of dry sheep and milk production of lactating dairy ewes. *Animal Production* 69, 637-645.
- Zervas, G., Tsiplakou, E., 2011. The effect of feeding systems on the characteristics of products from small ruminants. *Small Ruminant Research* 101, 140-149.
- Zhang, R.H., Mustafa, A.F., Zhao, X., 2006. Effects of feeding oilseeds rich in linoleic and linolenic fatty acids to lactating ewes on cheese yield and on fatty acid composition of milk and cheese. *Animal Feed Science and Technology* 127, 220-233.