

**Optimización en la producción de ácidos  
linoleicos conjugados en la leche, mediante  
manipulación del alimento balanceado  
para vacas Jersey**

**Arianna Denisce Romero Marcia  
Uriel Carlos Urbizo Reyes**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano  
Honduras**

Noviembre, 2017

ZAMORANO  
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

# **Optimización en la producción de ácidos linoleicos conjugados en la leche, mediante manipulación del alimento para vacas Jersey**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingenieros en Agroindustria Alimentaria en el  
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

**Arianna Denisce Romero Marcia**  
**Uriel Carlos Urbizo Reyes**

**Zamorano, Honduras**  
Noviembre, 2017

## **Optimización en la producción de ácidos linoleicos conjugados en la leche, mediante manipulación del alimento balanceado para vacas Jersey**

**Arianna Denisce Romero Marcia**  
**Uriel Carlos Urbizo Reyes**

**Resumen.** Los ácidos linoleicos conjugados (ALC) son isómeros derivados de reacciones enzimáticas ruminales como la biohidrogenación, considerados con un alto valor nutricional en la leche bovina por sus propiedades benéficas al consumidor. El objetivo de este estudio fue desarrollar una ecuación matemática que permita predecir valores de ALC en la leche mediante la manipulación de la cantidad de concentrado y aceite suministrado al ganado. Esta optimización se realizó mediante un arreglo factorial  $2^k$  delimitado por la metodología de superficie respuesta de primer orden con cuatro puntos factoriales y un duplicado del punto central, siendo el aceite de maíz y el concentrado las variables independientes. El estudio fue realizado en la unidad de ganado lechero de Zamorano, donde se alimentó a veinticuatro vacas Jersey con la misma producción de leche, número de parto, y días en lactancia, con una dieta hipocalórica suplementada con aceite de maíz. Se cuantificó la grasa láctea para posteriormente analizar color, pH, viscosidad y perfil de ácidos grasos mediante cromatografía gaseosa en el Laboratorio de Análisis de Alimentos (LAAZ). Los resultados obtenidos indican que el aceite de maíz es la variable de mayor influencia en cuanto a la producción de ALC, ácido transvaccénico, grasa saturada y poliinsaturada. El punto óptimo para maximizar ALC en la leche se alcanza con una suplementación de 385 gramos de concentrado por litro de leche y 360 gramos de aceite de maíz diario, se recomienda realizar otro estudio siguiendo la misma metodología adicionando puntos axiales evaluando el efecto en grasas saturadas y poliinsaturadas.

**Palabras clave:** Aceite de maíz, biohidrogenación, cromatografía, superficie respuesta.

**Abstract.** Conjugated Linoleic Acids (CLA) are isomeric byproducts of ruminal enzymatic reactions such as biohydrogenation, considered with a high added value in bovine milk due to its beneficial properties to the consumer. The objective of this study was to develop a mathematical equation which will allow CLA predictions in bovine milk by manipulating fodder and corn oil given to the cattle. This optimization was carried on by a factorial arrangement  $2^k$  drafted by response surface methodology of first order, with four factorial points and a duplicated central point, where corn oil and fodder are the independent variables. This study was located in the dairy farm at Zamorano, where twenty-four Jersey cows with the same milk production, births and days of lactation, were fed with a low calorie diet supplemented with corn oil. Milk fat was quantified to analyze color, pH, viscosity and fatty acid profile through gas chromatography in Food Analysis laboratory. Corn oil is the variable of greatest influence in terms of CLA production, transvaccenic acid, polyunsaturated fat and saturated fat. The optimal point for CLA maximization was reached with a diet supplemented of 385 grams of fodder per liter of milk and 360 grams of corn oil, it is recommended to follow up the study with a second order response surface methodology to evaluate the effect in saturated and polyunsaturated fats.

**Key words:** Biohydrogenation, corn oil, chromatography, response surface.

## CONTENIDO

Portadilla .....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos .....	v
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>3</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>9</b>
<b>4. CONCLUSIONES .....</b>	<b>27</b>
<b>5. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>28</b>
<b>6. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>29</b>
<b>7. ANEXOS .....</b>	<b>32</b>

## ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Codificación de variables independientes del experimento .....	5
2. Decodificación del diseño experimental del proceso de la dieta para vacas Jersey.....	6
3. Análisis proximal de harina de soya.....	9
4. Análisis proximal de harina de maíz. ....	10
5. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado en el contenido de ácidos linoleicos conjugados en la leche. ....	10
6. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado en el contenido de ácido transvaccénico en la leche.....	12
7. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado en el contenido de grasa saturada en la leche. ....	14
8. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado en el contenido de grasa poliinsaturada en la leche. ....	16
9. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado en el índice de blancura conjugados en la leche. ....	18
10. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado a los costos de producción por litro de leche. ....	20
11. Perfil graso de yogur natural y zamodelfia.....	26
Figuras	Página
1. Planeamiento factorial con dos niveles y un punto central. ....	7
2. Efecto de las variables independientes; Aceite de maíz diario y gramos de concentrado por litro de leche en la producción de ácidos linoleicos conjugados. ....	11
3. Efecto de las variables independientes; Aceite de maíz diario y gramos de concentrado por litro de leche en la producción de ácidos transvaccénico.....	13
4. Efecto de las variables independientes; Aceite de maíz diario y gramos de concentrado por litro de leche en el porcentaje de grasa saturada de la leche. ....	15
5. Efecto de las variables independientes; Aceite de maíz diario y gramos de concentrado por litro de leche en el porcentaje de grasa poliinsaturada de la leche.....	17
6. Efecto de las variables independientes; Aceite de maíz diario y gramos de concentrado por litro de leche en el Índice de Blancura de la leche. ....	19

Figuras	Página
7. Efecto de las variables independientes; Aceite de maíz diario y gramos de concentrado por litro de leche en el costo por litro de leche funcional producido.	21
8. Diagrama de Pareto para producción de leche, grasa láctea, pH, grasa trans y viscosidad. ....	23
9. Función de utilidad de las variables independientes sobre la cantidad de ácidos linoleicos conjugados, grasa poliinsaturada, grasa saturada y costos. ...	24
Anexos	Página
1. Rutas principales para la síntesis de cis-9 trans-11 C18:2 en el rumen y glándula mamaria .....	33
2. Isómeros de ácido linoleico conjugado. ....	33
3. Vacas Jersey distribuidas por tratamiento .....	34
4. División de potreros en la unidad de ganado lechero.....	34
5. Muestreo de leche en la unidad de ganado lechero, Zamorano.....	35
6. Características del hato lechero según la distribución de los tratamientos.. ....	35
7. Extracción de grasa láctea por el método Babcock. ....	36
8. Lectura de cromatografía de muestras de grasa láctea .....	36
9. Dieta hipocalórica suplementada al ganado . ....	36
10. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado en la producción de leche.....	37
11. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado en pH de la leche.....	37
12. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado en el contenido de grasas trans en la leche. ....	37
13. Etiqueta nutricional queso zamodelfia y yogur natural.....	38

# 1. INTRODUCCIÓN

La optimización en la producción de alimentos se ha vuelto una parte fundamental en la industria alimentaria con el fin de minimizar costos, tiempos y maximizar la eficiencia, productividad y la calidad del producto (Rodrigues y Iemma 2015). Optimizar los alimentos o sus componentes en el proceso de producción se ha vuelto una alternativa muy considerada con el fin de proporcionar a los consumidores productos cada vez más completos satisfaciendo nuevas necesidades sensoriales y nutritivas. La leche es un alimento muy versátil y de alto consumo a nivel mundial. Estudios han logrado determinar que ciertos ácidos grasos presentes en ella llamados ácidos linoleicos conjugados (ALC), se relacionan con funciones anti carcinogénicas, hipocolesterolemia, estimulantes del sistema inmune, antioxidante y reductor del peso corporal (López *et al.* 2013). Los lácteos han marcado una tendencia que actualmente resguarda a la innovación en su máxima expresión, estos mundialmente reconocidos como el segundo sector alimenticio más innovador después de la industria de agua y bebidas. La demanda de los consumidores de obtener alimentos que beneficien su organismo hace que el sector lácteo sea líder en desarrollo de alimentos funcionales siendo las últimas tendencias las leches enriquecidas con minerales, vitaminas, y ácidos grasos (Pineda 2013). Siguiendo esta tendencia de innovación y el incremento de enfermedades de todo tipo, se ha optado por buscar soluciones a esta problemática explotando técnicas y métodos innovadores como la optimización de componentes benéficos en los alimentos. Este estudio se enfocó en los componentes benéficos de los productos lácteos principalmente en los de naturaleza lipídica.

Para lograr una fortificación en los componentes benéficos de naturaleza lipídica se puede optar por dos alternativas, la adición de ácidos grasos benéficos o una fortificación natural, que se basa en maximizar la síntesis de ellos por la vaca. La síntesis de estos compuestos depende directamente de la calidad alimenticia y del tipo y cantidad de aceite que el ganado lechero consuma (Orellana 2016). La materia grasa con la que se debe alimentar a los animales se debe medir con base en criterios de calidad biológica y calidad química del perfil de ácidos grasos que contengan. Los aceites proporcionados para alimentación animal en cuanto a calidad biológica deben tener menor contenido de ácidos grasos saturados, buena digestibilidad y un alto valor de energía digestible.

Siempre se ha tenido una visión negativa acerca de los ácidos grasos de naturaleza trans, evidenciando numerosas veces el efecto de los mismos en la salud a tal grado que se han realizado esfuerzos para remover los ácidos grasos trans de las fuentes de alimentos (Ballesteros *et al.* 2012). Sin embargo, existe literatura científica que empieza a diferenciar entre ácidos grasos trans que son de aceites sintéticamente producidos y los que son producidos naturalmente por rumiantes, incluyendo el *trans*-11 18:1 ácido vaccénico y el

isómero de ácido linoleico conjugado *cis-9, trans-11* (López *et al.* 2013). Estos ácidos grasos trans son producidos por una serie de reacciones enzimáticas que tienen lugar en el rumen. Estas reacciones producidas por la biohidrogenación donde actúa *Butyrivibrio fibrisolvens*, hacen que se forme el ácido vaccénico que a su vez se transforma al ácido ruménico (López *et al.* 2013). Las bacterias son los microorganismos más importantes en el proceso de biohidrogenación y síntesis de ALC, además estos pueden ser sintetizados por una ruta enzimática, la cual se ha marcado como una fuente sustanciosa de los mismos, siendo la enzima Delta (9)- desaturasa que permite convertir los ácidos grasos saturados en ácidos grasos mono insaturados (Troncoso 2014). Otros estudios han demostrado que hay una proporción de aproximadamente 64% de los ALC son sintetizados de manera endógena en el rumen de la vaca por lo cual se vuelve una fuente significativa al momento de contribuir en su aporte a productos lácteos (Griinari *et al.* 2000).

En estudios preliminares se han evaluado el efecto de estos ácidos grasos en la sangre humana, y han determinado que tres gramos diarios durante ocho semanas y combinaciones de los ácidos grasos *cis-9, trans-11* y su isómero *trans-10, cis-12* en proporciones de 80:20, otorgan el mayor efecto en la reducción de colesterol VLDL en la sangre (Noone *et al.* 2002). La Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA) reconoce los ácidos linoleicos conjugados como inocuos o Generally Recognized As Safe (GRAS). Basado en datos clínicos, toxicológicos e históricos en el consumo de ALC, un panel experto concluyó en 2007 que un consumo estimado de 50:50 ALC (*cis-9 trans-11* y *trans-10 cis-12*) está dentro de los parámetros que la FDA establece su uso seguro como ingrediente alimenticio de niveles de 1.5 g por porción, consumiendo aproximadamente dos porciones diarias. El ácido linoleico conjugado comercial puede ser declarado como ALC o por su nombre completo, debido a que no es considerado como ácido graso *trans* según el Reglamento del FDA (Cho 2009). Los ALC existentes de manera comercial en forma de capsulas gelificadas compuestas con una relación 80:20 o 50:50 de *cis-9, trans-11* y *trans-10, cis-12*, utilizadas como ingrediente alimenticio o suplemento. Cada vez más alimentos son fortificados de manera natural y se trata de evitar la adición de compuestos sintéticos. De esta manera para aumentar las concentraciones de ALC en la grasa de la leche se ha optado por incrementar la síntesis de estos, alimentando con suplementos que contengan trans 11 18:1 3 este manejo nutricional de la biohidrogenación del rumen permitirá incrementar la formación de trans 11, 18:1 precursor de los ALC.

Para esta investigación se establecieron los siguientes objetivos:

- Determinar el valor específico para cada variable independiente: Concentrado (g)/L de leche y aceite de maíz diario (g) que maximicen la producción de ácidos linoleicos conjugados en la leche.
- Desarrollar una ecuación que permita predecir valores específicos de ALC en la leche.
- Identificar qué factor tiene mayor impacto en la producción de ALC.

## 2. MATERIALES Y METODOS

### **Localización del estudio.**

El estudio se llevo a cabo en tres etapas: planta, campo y laboratorio dentro de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. La elaboración de los piensos para el ganado se realizó en la Planta de Concentrados y Semillas de Zamorano. La segunda etapa, donde se alimentó al ganado en la unidad de Ganado Lechero y la tercera etapa para extracción de grasa láctea en la Planta de Lácteos y su posterior análisis de color, pH, viscosidad y perfil de ácidos grasos en el Laboratorio de Análisis de Alimentos (LAAZ).

### **Metodología.**

El experimento se realizó en los potreros de la unidad de ganado lechero donde se ubicaron seis grupos de cuatro vacas Jersey al azar siendo 24 unidades experimentales con el mismo número de partos, nivel de producción y días en lactancia con la finalidad de reducir la variabilidad. La alimentación del ganado consistió en pasto, concentrado, ensilaje y aceite de maíz. En cuanto al pasto se decidió trabajar bajo dos parcelas de siete potreros con diferentes pastos. La primera rotación de nivelación se realizó en la primera parcela con pasto *Brachiaria híbrido* (Mulato II y Cayman) de 1.5 Ha total, con siete potreros de 0.20 Ha cada uno. La segunda rotación de adaptación a la dieta en la parcela silvopastoril con pasto *Tobiatá* de 1.60 Ha y siete potreros de 0.22 Ha. Las vacas pastorearon 2 días por potrero en cada una de las parcelas, además de realizar una segunda rotación por la primera parcela para la toma de muestras, obteniendo un tiempo total del estudio de 42 días.

### **Reactivos.**

Serie de compuestos químicos utilizados en diferentes cantidades y concentraciones para la extracción de grasa y análisis del perfil lipídico por cromatografía de gases.

- Ácido sulfúrico, J.T.Baker CAS 7664-93-9.
- Hidróxido de potasio (99% pureza) pellets, Merck CAS 1310-58-3.
- Metanol (MeOH) grado HPLC > 99.9 %, Merck CAS 67-56-1.
- Estándar de referencia FAME MIX GLC-714, 20 mg/mL en isooctano, ampolle de 100 mg, Nucheck Prep.
- Isooctano grado reactivo de 99.5%, Emsure CAS 540-84-1.
- Hidróxido de Potasio, Sigma-Aldrich CAS 1310-58-3.
- Sulfato de Sodio, Anhídrido, Granular Polvo, J.T. Baker CAS 7757-82-6.

### **Materiales y equipo.**

Para la elaboración del experimento se utilizaron los siguientes equipos:

- Cromatógrafo de Gases Agilent 7890 A GC system, con detector FID.
- Balanza analítica, Ohaus, Modelo Ex224.
- Viales ámbar de 2ml Teflón™.
- Tubos de ensayo de 15 ml.
- Pipetas Pasteur. Pipetas de 1ml (1:10) Pyrex.
- Butirómetros Garver.
- Centrifugadora Garver Electrifuge Model 224.
- Hidrogeno al 99.99% como fase móvil.
- Generador de Hidrogeno Parker Balston para cromatografía de gases.
- Puerto de inyección Split liner 4mm, 6.6 mm o.d.× 75mm.

### **Caracterización de materias primas para concentrado.**

**Preparación de la muestra.** Se caracterizaron las materias primas utilizadas para la elaboración del alimento balanceado de manera proximal por el método de espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) con la finalidad de observar la granulometría y el aporte nutricional que la harina de soya y de maíz tiene en el concentrado.

Las muestras de maíz molido y harina de soya fueron recolectadas de la planta de concentrados de Zamorano, y llevadas al Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ) para ser analizadas. La muestra de harina de soya fue molida en un molino Cyclotec Sample Mill con tamiz de 1 mm de diámetro previo al análisis proximal con Espectroscopía de Infrarrojo Cercano (NIRS).

**Lectura NIRS.** Los espectros se recolectaron utilizando el equipo FOSSNIR SY-3650 II, Modelo 5000 (NIRS Systems) mediante celdas de transporte rectangulares (5×7 cm) con una ventana de cuarzo bajo condiciones de temperatura y humedad monitoreadas por un termo higrómetro.

Las muestras se leyeron por el monocromador en el rango de 1,100-2,500 nm del espectrofotómetro de infrarrojo cercano, su reflectancia guardada como el logaritmo (1/R) a 2 nm de intervalo y enviada a una computadora para su almacenamiento y posterior análisis mediante el software Analytical Report AMINONIR de Evonik Industries.

**Diseño experimental.** Para lograr la optimización de la bio-hidrogenación de los ALC en el rumen de la vaca se estableció un arreglo factorial delineado por la metodología de superficie de respuesta. El diseño propuesto se compone de 6 tratamientos, combinando las variables independientes: Concentrado (g)/litro de leche y aceite de maíz diario (g), comparándose con un punto central que se fijó a partir de una dieta estándar similar a la que generalmente contiene valores recomendados por literatura y conocimiento técnico. Para realizar el análisis se estableció el número de tratamientos calculado en base a la ecuación 1.

$$n = 2^k + m \quad [1]$$

Dónde:

$2^k$  = número de puntos factoriales

m = número de repeticiones del punto central.

N =  $2^2 + 2 = 6$  TRT

Una vez el número de tratamiento fue calculado se realizó la aleatorización de grupos asignando vacas con similares características: producción de leche, días en lactancia, raza, condición corporal y número de partos distribuyendo grupos de cuatro vacas en los seis tratamientos, obteniendo un total de 24 vacas.

Los niveles de las variables independientes (Cuadro 1) en los cuales el modelo recaería fueron establecidos según recomendaciones técnicas, respaldadas en literatura para suplementación de ganado lechero. Existen beneficios al alimentar con suplementación proteica y energética a partir de concentrados, se recomienda suministrar de 250 a 450 gramos/vaca/litro para hatos que estén produciendo leche en grandes proporciones (Bargo *et al.* 2003). La adición de grasas puede ser utilizada hasta un nivel máximo recomendado de 400 g para evitar daños ruminales, acidosis o problemas metabólicos (Herdt 2017). Sin embargo, un suministro excesivo de grasa e hidratos de carbono de fácil digestión provenientes de granos molidos pueden conducir a un desequilibrio de nutrientes y acidosis ruminal (Sienra 2009).

Cuadro 1. Codificación de variables independientes del experimento

Variables Independientes	Niveles		
	-1	0	1
Concentrado (g) / L de leche	385.0	392.5	400.0
Aceite de maíz diario (g)	120.0	240.0	360.0

La distribución de los tratamientos con sus respectivos niveles fueron decodificados de la siguiente manera siendo los puntos uno, dos, tres y cuatro los puntos factoriales positivos y negativos, con los valores mínimos representados con un signo negativo y los máximos con positivo. El punto central se estableció por duplicado para demostrar la confiabilidad del experimento y capacidad técnica de los investigadores de conducir el experimento permitiendo la reducción de más valores o tratamientos replicados (Cuadro 2).

Cuadro 2. Decodificación del diseño experimental del proceso de la dieta para vacas Jersey.

Tratamientos	Variables codificadas		Variables decodificadas	
	Concentrado (g) / L de leche	Aceite de maíz diario (g)	Concentrado (g) / L de leche	Aceite de maíz diario (g)
1	-1	-1	385.0	120
2	1	-1	400.0	120
3	-1	1	385.0	360
4	1	1	400.0	360
5 ¶	0	0	392.5	240
6 ¶	0	0	392.5	240

¶: Punto central, Control

**Análisis estadístico.** Se realizó un análisis factorial del diseño compuesto rotacional para evaluar el efecto de cada variable independiente en la producción de los diferentes componentes de la leche de las vacas Jersey. Se utilizó el programa Statistica 10.0<sup>®</sup> para definir los gráficos de superficie respuesta y las regresiones. La significancia del modelo fue determinada mediante la prueba de distribución de F, comparando el F calculado con el F tabular, tomando en cuenta los grados de libertad de los coeficientes de regresión significativos y los residuales. El criterio específico para la prueba F es: si F calculado es mayor al F tabular el modelo es de naturaleza significativa o predictivo. Con el uso de Statistica 10.0<sup>®</sup> se realizó un análisis de varianza (ANOVA), con una probabilidad de 10% como segundo criterio de significancia del modelo. Si el  $R^2$  es menor a 60 se dice que el modelo es tendencioso y si es mayor es predictivo (Rocha 2009). Así mismo, la falta de ajuste es otro de los criterios que define la significancia del modelo. Si la falta de ajuste es significativa el modelo se clasifica como tendencioso.

Una vez realizados los análisis estadísticos y determinada la significancia de cada factor se realizaron los gráficos de superficie respuesta utilizando el programa Statistica 10.0<sup>®</sup>. Los modelos matemáticos fueron realizados mediante un análisis de regresión de primer orden utilizando los valores reales de los tres niveles de las variables independientes.

Se estableció una distribución del planeamiento factorial distribuyendo los tratamientos para mostrar la tridimensionalidad del modelo (Figura 1). Este modelo muestra los seis tratamientos con sus valores codificados y valores reales. Los puntos 1, 2, 3 y 4 son los puntos factoriales siendo el 5 el punto central del modelo. Los cuatro puntos factoriales representan las combinaciones de los valores reales inferiores y superiores de las variables independientes, siendo su codificación +1 para los valores superiores y -1 los inferiores.

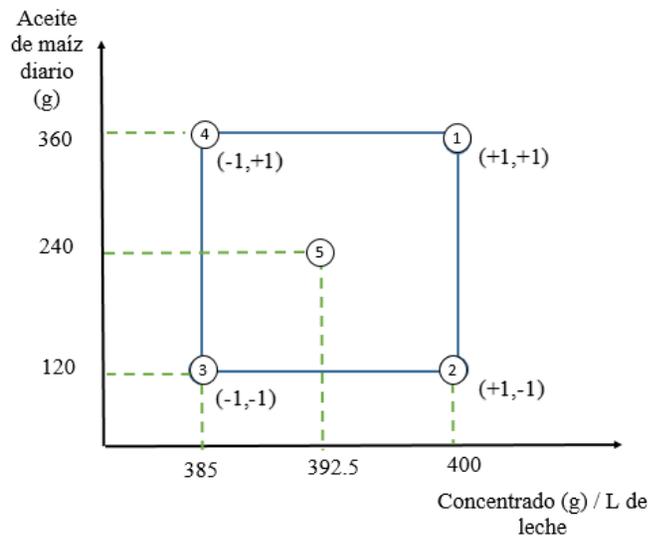


Figura 1. Planeamiento factorial con dos niveles y un punto central.

### Análisis físico químico de la leche.

**Cuantificación de grasa láctea.** Se realizó utilizando la metodología de Babcock 989.04 (AOAC 2002). El butirómetro consta de una escala porcentual de 1-8% para leche entera. La grasa extraída se reportó en porcentaje, (gramos de grasa láctea /100 gramos de leche).

**Derivatización de la grasa láctea.** La grasa de la leche fue transesterificada, con el fin de reorganizar los ácidos grasos, incrementar la volatilidad de la muestra y la capacidad respuesta del detector. Esto se realizó mediante la transesterificación de ácidos grasos, por el método Ce 2b-11 (AOCS 2017). Los pasos para el análisis fueron los siguientes:

Se tomaron 20 gotas de la muestra del extracto etéreo colocándose en un tubo de ensayo adicionando 800 µl de isooctano en solución metanol al 2M. Seguidamente se adicionó el catalizador KOH al 2M agitándose en un vortex durante 8 minutos, dejándolo reposar por un periodo de 10 minutos. Se tomaron 300 µl de la fase con isooctano, parte de arriba de la solución diluyéndolo con 4 ml de isooctano y añadiendo 1 g de sulfato anhídrido dejando la solución en reposo nuevamente por 10 minutos. Finalmente se transfirió 1 ml de la fase de isooctano a un vial ámbar rotulado con pipeta Pasteur listo para análisis cromatográfico.

**Análisis Cromatográfico.** Se realizó a través del método Ce 2b-11 (AOCS 2017):

Para este estudio las condiciones del método utilizado fueron: temperatura del horno (250°C), programa del horno (temperatura inicial 180°C luego 20°C/min hasta llegar a 215°C), con un tiempo de corrida de 65 minutos y volumen de inyección de 1 µL. El puerto de inyección: Split liner 4 mm i.d.; 6,6 mm o.d. x 75 mm con micro jeringa con aguja, para cromatografía de gases 10 µL. La fase estacionaria fue: Supelco SP-2560 Fused Silica Capillary Column 250 °C: 100 m x 250 µm x 0.25 µm. Se inyectó un flujo de hidrógeno como fase móvil utilizando el Generador de hidrógeno Parker Balston para GC (40 mL/min), con un flujo de aire de 450 mL/min. Finalmente para la identificación y cuantificación de los ácidos grasos se compararon los tiempos de salida con estándares y se cuantificó a través de la integración de áreas de los cromatogramas, calculando en porcentaje cada área con respecto a la línea base.

**Análisis de color.** Se evaluó el color de las muestras con el Colorflex Hunter L, a\*b\*® utilizando como método de análisis AN 1018.00 (HunterLab 2008). Se evaluaron los valores L, a\*b\*, que tiene la siguiente escala, L luminosidad en una escala de 0 a 100, donde 0 es negro y 100 es blanco. El valor a\* cuantifica el color -80 corresponde a verde, 80 corresponde a rojo y 0 es el neutro. b\* cuantifica el color -80 corresponde a azul y 80 corresponde a amarillo (HunterLab 2008).

Una vez realizada la lectura los valores fueron introducidos a la ecuación 2, esto para realizar el cálculo de índice de blancura (IB). Este índice nos indica cuando un material o superficie tiene un color blanco ideal, siendo los valores superiores a 100 los que se encuentran con una leve tonalidad azul, y los inferiores a 100 los que tienen blancos amarillentos (Montoya *et al.* 2012). Se realizaron tres repeticiones para cada tratamiento.

$$IB = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2} \quad [2]$$

**Análisis de viscosidad.** Para el análisis de viscosidad se utilizó una muestra de 250 mL en un matraz de vidrio, la viscosidad se determinó por el Reómetro de Brookfield DV-III Ultra V6.1 LV spindle 61. La medición se realizó cuatro veces para cada tratamiento a 150 rpm (se tomó el dato cada 30 segundos). La viscosidad se reportó en Pa·s.

**Análisis de acidez.** Se midió el pH de la leche con un potenciómetro calibrado OHAUS ST2100, realizando tres repeticiones por muestra bajo condiciones controladas de temperatura y humedad relativa.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al observar los resultados obtenidos para harina de soya (Cuadro 3) se evidencia que el porcentaje de proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda y cenizas son muy similares a los obtenidos por Cardona *et al.* (2016). Otro estudio realizado por Gallardo (2010) establece rangos de porcentaje de fibra ácido detergente y fibra neutro detergente de acuerdo al tipo de proceso industrial de obtención de este subproducto. Estableciendo los rangos para fibra ácido detergente 6.0 a 10.0 y fibra neutro detergente 9.8 a 14.9 donde los resultados obtenidos se asemejan con un  $\pm 0.4$  y  $\pm 1.0$  de variabilidad respectivamente, esto debido al método indirecto aplicado en este estudio (Gallardo 2010).

Cuadro 3. Análisis proximal de harina de soya.

Parámetro	Contenido (%)*	Contenido real (%)
Proteína cruda	46.7	47.38
Extracto etéreo	2.6	2.60
Fibra cruda	3.3	3.40
FAD	5.6	5.70
FND	8.8	8.90
Cenizas	6.8	6.90
Almidón	0.6	0.60
Azúcar	9.3	9.40
Fósforo[mg/kg]	6300	6392
Fósforo fítico	3780	3835

Materia seca (%): 89.29

\*Valores estandarizados para un contenido de materia seca de 88%

FAD: Fibra ácido detergente

FND: Fibra neutro detergente

La caracterización de la harina de maíz usada para el estudio se realizó por el método indirecto de espectroscopia de infrarrojo cercano. Al comparar los resultados, se observó que los valores obtenidos a partir de espectrometría de infrarrojo cercano se asemejaron a los obtenidos para (proteína, fibra cruda, FAD, FND, minerales y carbohidratos) por Salinas *et al.* (2008) diferenciándose únicamente en el contenido de extracto etéreo (Cuadro 4). Esta variable difiere en un 17.5% del dato obtenido a partir del método indirecto (NIRS). La caracterización nos permitió evaluar la composición

de la matriz alimenticia de los rumiantes e identificar componentes que puedan afectar la composición y características físicoquímica de la leche (pH, índice de blancura, viscosidad).

Cuadro 4. Análisis proximal de harina de maíz.

<b>Parámetro</b>	<b>Contenido (%)*</b>	<b>Contenido real (%)</b>
Proteína cruda	6.55	6.62
Extracto etéreo	3.3	3.3
Fibra cruda	2.2	2.2
FAD	2.9	3.0
FND	9.8	9.9
Cenizas	1.1	1.1
Almidón	66.7	67.4

Materia seca (%): 88.96

\*Valores estandarizados para un contenido de materia seca de 88%.

### Análisis químicos.

**Ácido linoleico conjugado.** Al evaluar el efecto de las variables independientes sobre el contenido de ALC se observó un efecto significativo de los gramos de aceite de maíz diario (Cuadro 5), con una probabilidad menor de ( $P < 0.10$ ). Se determinó que la falta de ajuste no fue significativa indicando que el modelo se ajusta para ser de carácter predictivo. El modelo presentó un  $R^2$  de 0.71 ajustándose a 71% de los datos, cumpliendo con el límite mínimo para ser categorizado como modelo predictivo al tener una probabilidad mayor de 60% (Rocha 2009).

Cuadro 5. Coeficiente de regresión, su probabilidad del modelo de regresión lineal para el contenido de ácidos linoleicos conjugados en la leche.

<b>Coeficientes</b>	<b>Ácidos linoleicos conjugados</b>	<b>Probabilidad</b>
Intercepto	6.97E-01	8.51E-02
X <sub>1</sub>	3.30E-03	6.96E-02 §
X <sub>2</sub>	-7.06E-03	6.82E-01 n.s.
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	1.00E-04	2.86E-01 n.s.
Falta de ajuste		1.40E-01 n.s.
Curvatura		1.39E-01 n.s.
R <sup>2</sup>		0.710
F. Calculado > F. tabular		8.69 > 4.54

X<sub>1</sub>: Aceite diario (g), X<sub>2</sub>: Concentrado (g) / L de leche, n.s.: No significativo

§: Significativa a una probabilidad <0.10.

A partir del Cuadro 5 se estableció la ecuación 3 que permite predecir el contenido de ALC a partir de la cantidad de aceite de maíz suplementado diariamente a una vaca jersey.

$$\text{Ácidos linoleicos conjugados} = 0.697 + 0.0033X_1 \quad [3]$$

Empleando la ecuación 3 se desarrolló un gráfico de superficie de respuesta (Figura 2) para observar la interacción entre las variables. Se evidenció el efecto de los gramos de aceite de maíz en la producción de ALC (%), obteniendo una mayor producción de estos al aumentar la suplementación del aceite de maíz en la dieta de las vacas Jersey. El concentrado no tuvo un efecto significativo en la producción de ALC siendo su probabilidad mayor a ( $P < 0.10$ ). Se sabe que hay una influencia de incremento de los componentes grasos de la leche al ser suplementada con alimento balanceado (Cisint *et al.* 2007). Se concluye que el concentrado (g)/ L de leche no tuvo un efecto significativo en los rangos seleccionados para el estudio, esto se puede deber a la baja diferencia de gramos entre tratamientos. El incremento de ALC se debe al alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados en el aceite de maíz, este puede llegar a contener aproximadamente un 56% de ácidos linoleicos en su matriz lipídica (FEDNA 2010). Es por eso que al aumentar su concentración en la dieta de los rumiantes se ve un incremento en la producción de ALC. Este proceso puede ocurrir de dos formas, la primera en la que el ácido linoleico sufre una isomeración del doble enlace en la posición 12 que provoca una transformación a configuración trans en su carbono 11 dando lugar a la formación de ALC (Gómez 2010). La segunda ruta sugiere una síntesis endógena a partir del ácido graso denominado vaccénico (18:1, 11t) que puede ser previamente formado por distintas enzimas del rumen, luego este sufre una desaturación por medio de la enzima delta desaturasa que actúa sobre el carbono 9 formando la típica configuración de ALC cis-9 trans-11 C 18:2 (Gómez 2010).

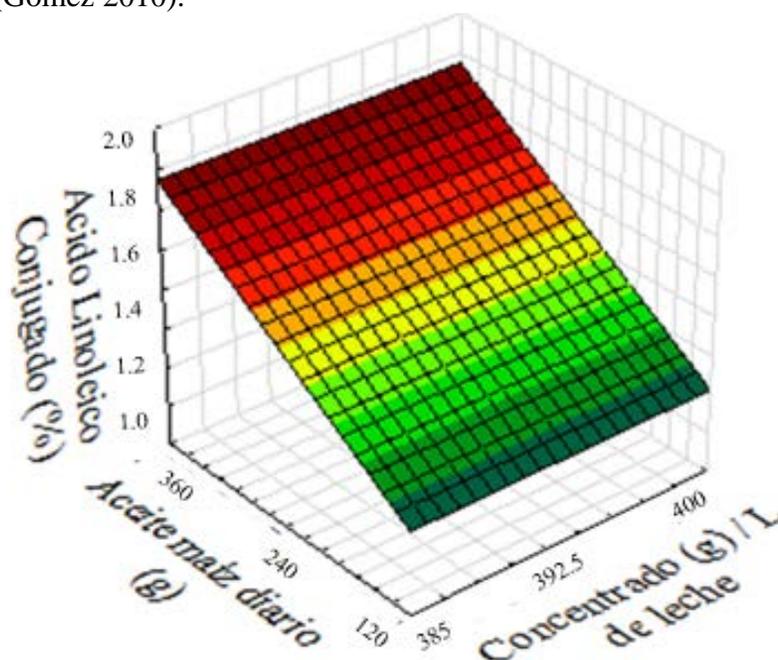


Figura 2. Efecto de las variables independientes; Aceite de maíz diario y gramos de concentrado por litro de leche en la producción de ácidos linoleicos conjugados.

**Ácido transvaccénico.** Ácido graso *trans* de mayor proporción en la grasa de rumiantes, producida en el rumen y precursor de los ácidos linoleicos conjugados (Turpeinen 2002). La grasa láctea contiene entre 1-8% de ácidos grasos *trans*, siendo el *trans*-11 C18:1 o ácido vaccénico (VA) el isómero cuantitativamente más importante (Gómez *et al.* 2010).

Se observa que la variable independiente, gramos de aceite diario de maíz fue significativa (Cuadro 6) con una probabilidad ( $P < 0.10$ ). El concentrado por litro de leche no tuvo efecto alguno sobre la producción de ácido transvaccénico con una probabilidad de 0.616. El  $R^2$  fue 89.4% que demuestra un alto ajuste del modelo a los datos evaluados y al ser mayor a 60, nos indica que los datos se ajustaron a las características de un modelo predictivo (Rocha 2009). La falta de ajuste es no significativa y el F calculado es mayor al F tabular, el cual indica que el modelo es predictivo.

Cuadro 6. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado en el contenido de ácido transvaccénico en la leche.

Coeficientes	Ácido transvaccénico	Probabilidad
Intercepto	1.72E+00	1.26E-01
X <sub>1</sub>	1.44E-02	5.86E-02 §
X <sub>2</sub>	-3.28E-02	6.16E-01 n.s.
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	1.80E-04	4.90E-01 n.s.
Falta de ajuste		1.82E-01 n.s.
Curvatura		4.42E-01 n.s.
R <sup>2</sup>		0.894
F. Calculado > F. tabular		18.72 > 8.53

X<sub>1</sub>: Aceite diario (g), X<sub>2</sub>: Concentrado (g) / L de leche, n.s.: No significativo

§: Significativa a una probabilidad <0.10.

A partir del cuadro 6 se desarrolló la ecuación 4 que permite predecir la producción de ácido transvaccénico considerando sus variables significativas.

$$\text{Ácido transvaccénico} = 1.7200 + 0.0144X_1 \quad [4]$$

Con la ecuación del modelo establecido, se realizó el gráfico de superficie respuesta (Figura 3) el cual indica que a mayor cantidad de aceite diario, la producción de ácido transvaccénico aumenta. Con 360 g de aceite diario el porcentaje de ácido transvaccénico es de 6.8, donde el concentrado por litro de leche no tiene influencia sobre su producción. Bajo ciertas condiciones de alimentación (un alto nivel de aceites, baja proporción de forrajes, pH bajo) la acumulación de *trans* 11 18:1 puede ser importante en el modelo de biohidrogenación (Palmquist 1996).

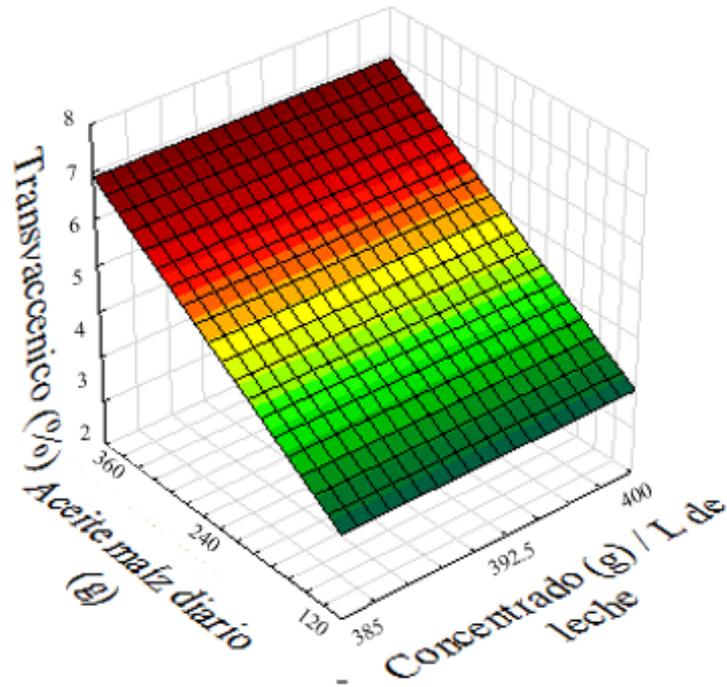


Figura 3. Efecto de las variables independientes; Aceite de maíz diario y gramos de concentrado por litro de leche en la producción de ácidos transvaccénico.

**Grasa saturada.** Ácidos grasos de cadena corta, media y larga C8-18, que se caracterizan por no poseer enlaces dobles. Aproximadamente un 70-75% de los ácidos grasos de la leche son saturados, siendo 12:0, 14:0 y 16:0 los de mayor proporción. Se ha estudiado que el consumo de forraje verde en rumiantes estabulados y alimentados con ensilaje de maíz más un suplemento basado en concentrado reduce la concentración de ácidos grasos saturados en productos lácteos (Ortega *et al.* 2013).

Se observa que la variable lineal de aceite diario y la curvatura son significativas con respecto a la producción de grasa saturada con una probabilidad  $<0.10$  (Cuadro 7). Una curvatura significativa indica que puede existir un efecto cuadrático en cuanto a la producción de grasa saturada, sin embargo se debe establecer puntos axiales para su adecuación a un modelo cuadrático y posterior investigación. El coeficiente de determinación  $R^2$  de  $0.9333 > 0.60$  indica que el 17% de los datos no se ajustaron al modelo debido a la falta de interacción entre las variables independientes. Clasificándose como modelo predictivo de acuerdo a la prueba F y debido al alto coeficiente de determinación (Rocha 2009).

Cuadro 7. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado en el contenido de grasa saturada en la leche.

<b>Coefficientes</b>	<b>Grasa saturada</b>	<b>Probabilidad</b>
Intercepto	7.09E+01	6.97E-03
X <sub>1</sub>	-2.29E-02	9.95E-02 §
X <sub>2</sub>	9.30E-02	2.92E-01 n.s.
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	-6.00E-04	3.70E-01 n.s.
Falta de ajuste		3.68E-01 n.s.
Curvatura		7.97E-02 §
R <sup>2</sup>		0.933
F. Calculado > F. tabular		25.58 > 5.54

X<sub>1</sub>: Aceite diario (g), X<sub>2</sub>: Concentrado (g) / L de leche, n.s.: No significativo

§: Significativa a una probabilidad <0.10.

Basándose en los coeficientes de regresión presentados en el cuadro 7 se desarrolló la siguiente ecuación que permite predecir el porcentaje de grasa saturada en la leche:

$$\text{Grasa Saturada} = 70.9358 - 0.0229X_1 \quad [5]$$

Con la ecuación 5 establecida, se realizó la gráfica de superficie de respuesta (Figura 4), el cual indica que a mayor cantidad de aceite diario, menor el porcentaje de grasa saturada que habrá en la leche. En este caso en específico la respuesta de un aumento en la cantidad de aceite de maíz resulta en una disminución del porcentaje de grasa saturada final. Esto se debe a que la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados, como lo es el aceite de maíz, en la dieta de los rumiantes es una forma certera de lograr disminuir la cantidad de determinados ácidos grasos saturados en la grasa láctea siendo reducidos en mayor proporción los ácidos C:12:0, C14:0 y C16:0, que son los precursores principales de enfermedades cardiovasculares (Gómez 2010). Otros estudios han determinado que un manejo de explotación mixto (consumo de pasto y ración con grasas poliinsaturadas y alto aporte energético durante estabulación) tiene un aumento significativo en las proporciones de ácidos vaccénicos, y ALC, lo que disminuye significativamente la relación de ácidos saturados (Vicente *et al.* 2009). Se evidencia el efecto lineal que produce la cantidad de aceite de maíz en el porcentaje de grasa saturada de la leche.

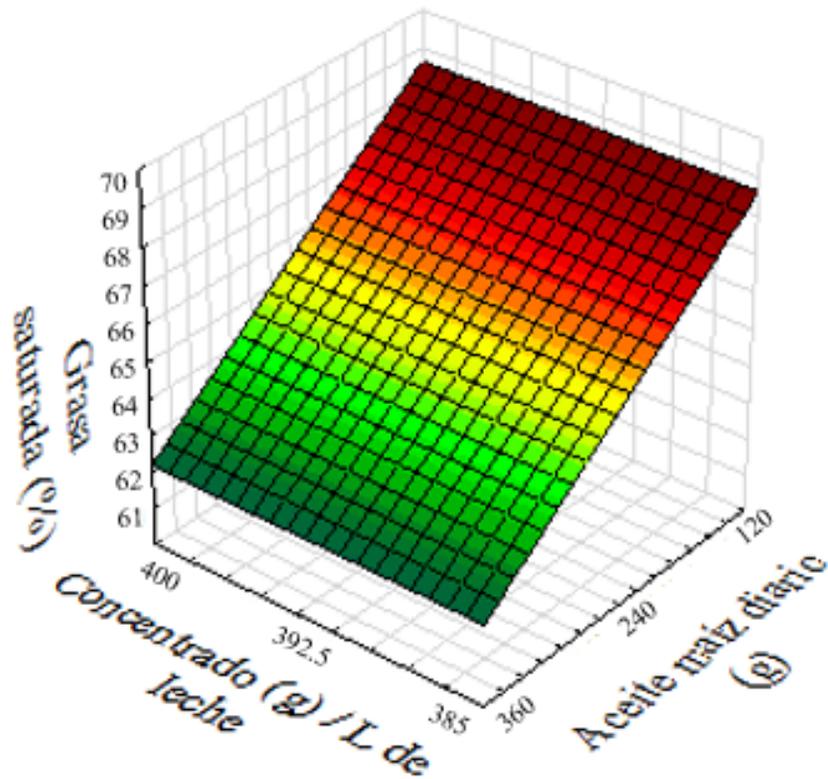


Figura 4. Efecto de las variables independientes; Aceite de maíz diario y gramos de concentrado por litro de leche en el porcentaje de grasa saturada de la leche.

**Grasa poliinsaturada.** Los resultados descritos en el cuadro 8 determinaron que la cantidad de grasa poliinsaturada en la matriz lipídica de la leche depende directamente de aceite de maíz suministrado diariamente a las vacas, al ser los gramos de aceite de maíz la única variable significativa siendo su probabilidad menor a ( $P < 0.10$ ). Al observar el coeficiente de determinación se observó que hubo un ajuste de 0.884 de los datos al modelo, siendo esta mayor a 0.6 y la falta de ajuste no significativa indica que el modelo se vuelve predictivo (Rocha 2009). El cuadro 8 muestra que la curvatura tuvo un efecto significativo ( $P < 0.10$ ) indicando un posible efecto cuadrático de la variable aceite de maíz diario (g) sobre el contenido de grasa poliinsaturada.

Cuadro 8. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado en el contenido de Grasa poliinsaturada en la leche.

<b>Coeficientes</b>	<b>Grasa poliinsaturada</b>	<b>Probabilidad</b>
Intercepto	1.82E+00	6.77E-03
X <sub>1</sub>	-5.13E-04	8.90E-02 §
X <sub>2</sub>	7.44E-03	2.13E-01 n.s.
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	-4.30E-05	1.40E-01 n.s.
Falta de ajuste		1.91E-01 n.s.
Curvatura		5.05E-02 §
R <sup>2</sup>		0.884
F. Calculado> F. tabular		11.36>8.53

X<sub>1</sub>: Aceite diario (g), X<sub>2</sub>:Concentrado (g) / L de leche, n.s.: No significativo

§: Significativa a una P<0.10.

A partir del cuadro 8 se pudo generar la siguiente ecuación que permite predecir el porcentaje de grasas poliinsaturadas de vacas Jersey bajo un sistema silvopastoril, esta ecuación indica que al aumentar la cantidad de aceite la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados se reduce.

$$\text{Grasa Poliinsaturadas} = 1.8226 - 0.0005X_1 \quad [6]$$

Con el fin de ejemplificar la ecuación 6 se desarrolló una gráfica de superficie de respuesta (Figura 5), en la cual se demuestra la interacción de la variable independiente y su variable respuesta. En este caso al aumentar la cantidad de aceite de maíz diario en la dieta suplementada afecta negativamente a la leche disminuyendo su contenido de grasas poliinsaturadas. Algunos autores lo correlacionan con el incremento de suplemento alimenticio el cual generalmente disminuye el consumo de pasturas (Bonet *et al.* 2011). El consumo excesivo de grasas no protegidas (grasas de añadidas a la dieta en forma de aceite) da como resultado problemas metabólicos en el rumen, reduce la digestión de fibra o pastos y grasa en la prueba de leche, esto puede explicar porque al incluir altas proporciones de grasa puede repercutir en una reducción en la cantidad de ácidos grasos insaturados, siendo estos principalmente sintetizados por los ácidos grasos otorgados por las pasturas principalmente (Wheeler 1993).

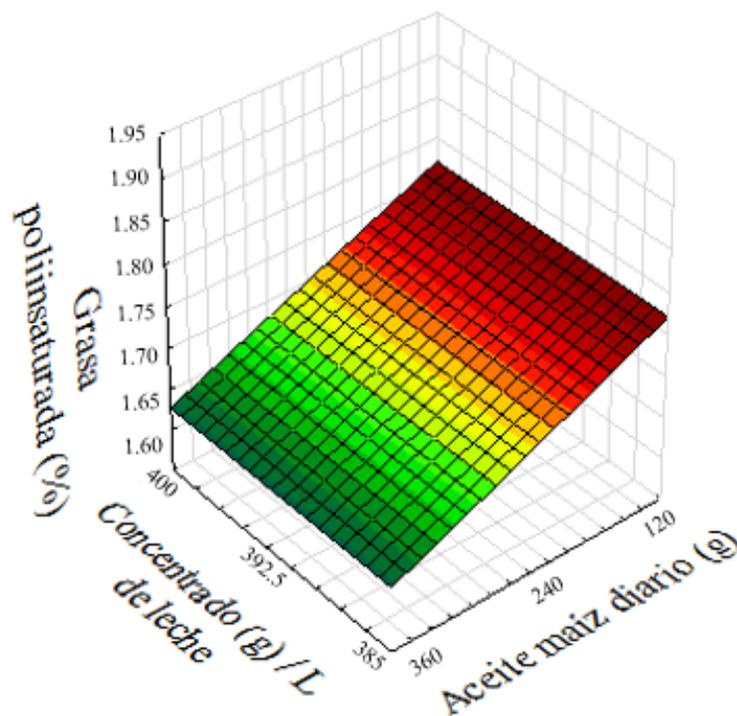


Figura 5. Efecto de las variables independientes; Aceite de maíz diario y gramos de concentrado por litro de leche en el porcentaje de grasa poliinsaturada de la leche.

**Índice de blancura.** Indicador de efecto de las variables independientes en luminosidad, croma, y tonalidad mediante modelos matemáticos. El color blanco de la leche es causado por los glóbulos de grasa y las micelas de caseína y el fosfato de calcio coloidal, aunque también influye la presencia de carotenos y riboflavina. Cuanto más pequeños sean los glóbulos de grasa, principales responsables de la dispersión de la luz, mayor será el efecto de la dispersión y mayor la blancura de la leche (Rettig 2014).

El aceite diario y el concentrado por litro de leche son no significativas ( $P < 0.10$ ) (Cuadro 9). Sin embargo es la interacción de los factores que representa una significancia en cuanto al índice de blancura. Una interacción significativa indica que ambos factores tienen que aumentar o disminuir para influir en el índice de blancura. El coeficiente de determinación  $R^2$  fue de 87% el cual me indica que los valores se ajustaron al modelo, siendo mayor a 60% determinando que el modelo es predictivo. La falta de ajuste es no significativa debido a que las variables por sí mismas no influyen sobre el índice de blancura. El F calculado es mayor al F tabulado lo cual indica que es un modelo predictivo.

Cuadro 9. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado en el índice de blancura conjugados en la leche.

Coeficientes	Índice de blancura	Probabilidad
Intercepto	4.00E+01	6.14E-02
X <sub>1</sub>	1.56E-01	5.85E-02 n.s.
X <sub>2</sub>	1.12E-01	5.58E-02 n.s.
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	-4.02E-04	5.79E-02 §
Falta de ajuste		1.33E-01 n.s.
Curvatura		1.33E-01 n.s.
R <sup>2</sup>		0.876
F. Calculado > F. tabular		10.31 > 8.53

X<sub>1</sub>: Aceite diario (g), X<sub>2</sub>: Concentrado (g) / L de leche, n.s.: No significativo

§: Significativa a una P < 0.10.

La ecuación matemática propuesta con base a los resultados del cuadro 9 en el índice de blancura considerando sus variables significativas:

$$\text{Índice de blancura} = 40.0000 + 0.1563X_1 + 0.1121X_2 - 0.0004X_1X_2 \quad [7]$$

Con el modelo matemático establecido previamente se graficó mediante superficie respuesta (Figura 6) la influencia en el índice de blancura con la interacción de aceite diario y concentrado por litro de leche. Al aumentar el aceite diario y el concentrado por litro de leche el índice de blancura disminuye, el cual es un atributo poco deseable en la leche. El índice de blancura nos indica cuando un material o superficie tiene un color blanco ideal, siendo los valores superiores a 100 los que se encuentran con una leve tonalidad azul, y los inferiores a 100 los que tienen blancos amarillentos (López *et al.* 2013). La leche es un líquido opalescente que parece blanco si el espesor es suficiente debido a la dispersión de luz por las micelas de fosfocaseinato de calcio. La leche contiene dos pigmentos principales: carotenos que son un colorante amarillo en la fase grasa que dependen de la calidad y cantidad de forraje; la riboflavina o vitamina B2 sintetizada por la micro flora ruminal (Alais y Godina 2003) proporcionadas por el Procreatin, aditivo usado en el concentrado suministrado al ganado. Según Cancer Care la riboflavina es sintetizada por *Saccharomyces cerevisiae* (2014) comercialmente conocido como Procreatin.

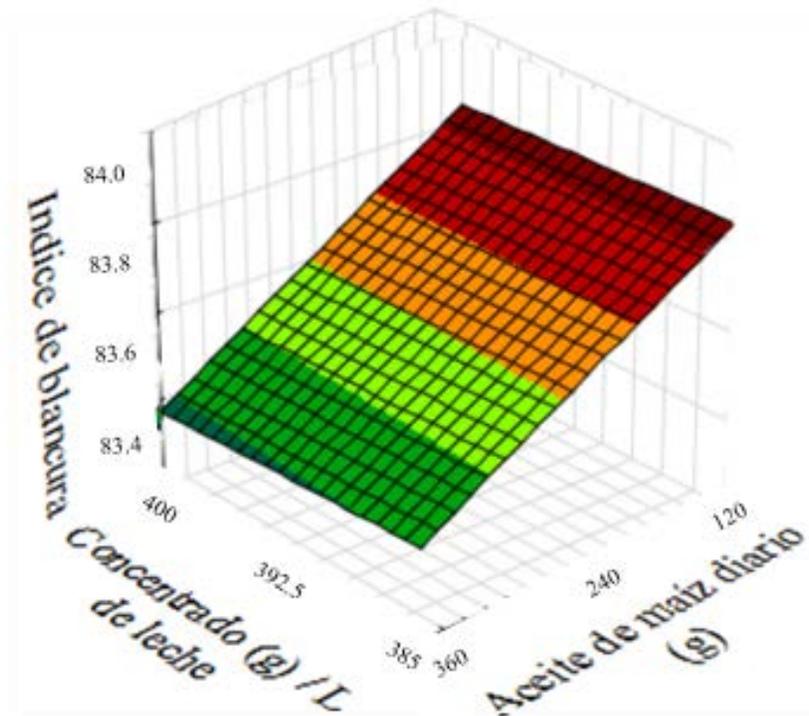


Figura 6. Efecto de las variables independientes; Aceite de maíz diario y gramos de concentrado por litro de leche en el índice de blancura de la leche.

**Costo.** El aceite de maíz diario, el concentrado por litro de leche y además su interacción son significativas con una ( $P < 0.10$ ) (Cuadro 10). Una interacción significativa indica que ambos factores tienen que aumentar o disminuir para influir en el costo. El coeficiente de determinación es de 99.9% siendo el criterio  $R^2 > 0.60$  nos indica que los valores se ajustaron al modelo en un 99.9%. La falta de ajuste es significativa y el F calculado es menor al F tabulado, indicando que los valores producidos por la ecuación son de naturaleza tendenciosa. Un modelo tendencioso puede estimar variables dependientes sin embargo, es menos exacto y preciso al estimar estos valores comparándose a un modelo predictivo. Finalmente se observó que la curvatura fue significativa indicando un posible efecto cuadrático, por lo cual se recomienda fijar la variable de aceite de maíz diario a la producción de leche con el fin de describir de mejor manera el costo de leche fuente de ALC, baja en grasas saturadas y alta en poliinsaturadas. Otra alternativa para describir mejor los costos relacionados a la producción es ligar la suplementación de aceite de maíz diario a la cantidad de litros de leche producida.

Cuadro 10. Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado a los costos de producción por litro de leche.

<b>Coefficientes</b>	<b>Costos</b>	<b>Probabilidad</b>
Intercepto	4.09E+01	1.21E-02
X <sub>1</sub>	-1.37E-01	1.35E-02 §
X <sub>2</sub>	-7.71E-02	1.63E-02 §
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	3.60E-04	1.31E-02 §
Falta de ajuste		2.60E-02 §
Curvatura		2.59E-02 §
R <sup>2</sup>		0.998
F. Calculado > F. tabular		9.04 < 9.16

X<sub>1</sub>: Aceite diario (g), X<sub>2</sub>: Concentrado (g) / L de leche, n.s.: No significativo, §: Significativa a una probabilidad <0.10.

La ecuación matemática propuesta con base a los resultados del cuadro 10 en resultado a los costos por litro de leche considerando sus variables significativas e interacciones:

$$\text{Costos por litro de leche (L)} = 40.8739 - 0.1368X_1 - 0.0770X_2 + 0.0003X_1X_2 \quad [8]$$

Al observar el efecto del concentrado por litro de leche producido y el aceite de maíz diario que componen el alimento balanceado (Figura 7) se observa como ambos factores tienen un efecto lineal en el costo por litro de leche producido. Se puede observar que al aumentar la cantidad de aceite diario de maíz y el concentrado por litro de leche los costos se elevan a su máximo. Esta función nos permite realizar una predicción de los costos empleados para cada tratamiento y una predicción de los valores estimados para el precio de la alimentación. Es importante mencionar que los factores mencionados no necesariamente representan un incremento en la producción de leche de los animales dado que la combinación de estos no tuvo ningún efecto estadísticamente significativo como se observa en la Figura 8. El costo de suplementos que contengan ALC de manera sintética ronda de 0.38 a 0.22 centavos de dólar por capsula de 1 g (Walgreens 2017). Algunos estudios recomiendan un consumo en humanos de 3.5 gramos de ALC para prevenir enfermedades como el cáncer de mama (Rodríguez *et al.* 2013). Sin embargo ningún alimento de naturaleza láctea o bio-fortificado, logra satisfacer el requerimiento diario por lo cual se sigue optando por una fortificación sintética en alimentos de naturaleza láctea especialmente.

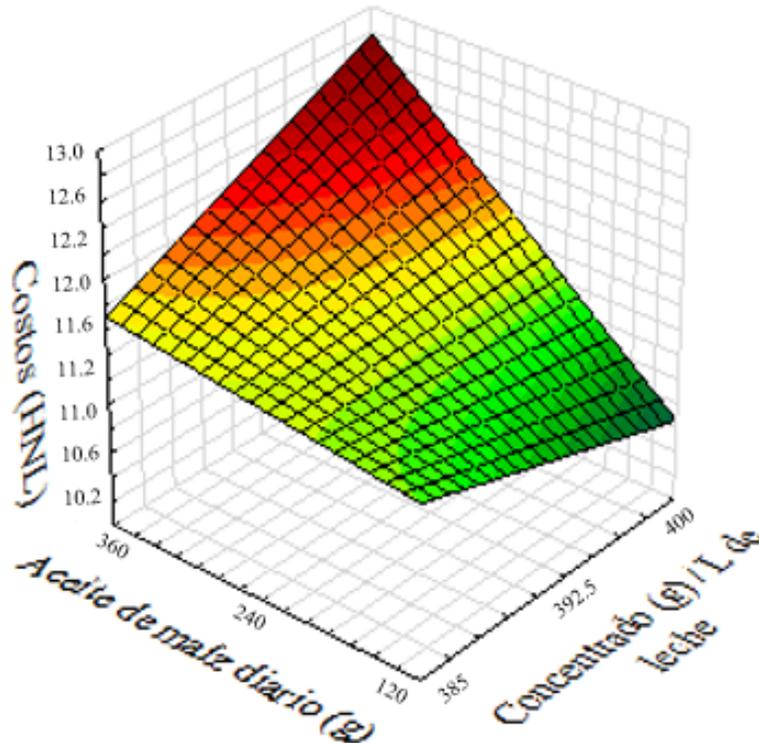


Figura 7. Efecto de las variables independientes; Aceite de maíz diario y gramos de concentrado por litro de leche en el costo por litro de leche funcional producido.

El estudio muestra que las variables independientes no tuvieron significancia para algunos análisis demostradas en la Figura 8, dichas variables no se ven influenciadas significativamente ( $P < 0.10$ ) por cambios en la dieta. Sin embargo, es importante considerar estos resultados pues permite demostrar que al momento de llevar a cabo predicciones a partir de las ecuaciones descritas en la investigación, dichas variables se mantendrán igual, sin repercutir en cambios organolépticos o bajas en la producción al aplicar valores dentro de los puntos factoriales descritos en esta investigación.

**Producción de leche.** El aceite de maíz diario y concentrado por litro de leche no fueron significativos ( $P < 0.10$ ) en la producción de leche del hato durante el tiempo al que estuvieron sometidas al estudio. Los efectos de la suplementación con grasa sobre la producción de leche son frecuentemente variables y pequeños, lo que hace difícil encontrar significancia (Palmquist 1996).

**pH.** Las variables independientes no tuvieron significancia alguna sobre el pH de la leche ( $P < 0.10$ ), al igual que su curvatura, lo que indica que no es necesario llevar a cabo un estudio sobre la influencia en el pH. Valores de pH inferiores a 6.5 y superiores a 6.7 en la leche de vaca son considerados como anormales (Alais y Godina 2003), evidenciando que no hubo efecto del aceite de maíz y concentrado sobre el pH, manteniéndolo dentro del rango aceptado.

**Grasas trans.** Las variables independientes (gramos de aceite de maíz diario y gramos de concentrado por litro de leche) no tuvieron efecto significativo ( $P < 0.10$ ). Las grasas trans son en su mayoría producidas por un proceso llamado biohidrogenación, esto generalmente se debe a una hidrogenación natural que ocurre en el rumen sobre los ácidos grasos poliinsaturados y monoinsaturados, al incrementar la cantidad de esta por pasturas o suplementación se ve un aumento en los ácidos grasos trans (Vargas *et al.* 2013). En este estudio no se determinó un aumento o efecto significativo, esto se debe al bajo nivel de diferencia en suplementación de pasturas oscilando los valores de grasas trans entre tratamientos de 4.7 a 10.0%.

**Viscosidad.** Variable dependiente cuyo efecto del aceite de maíz y concentrado no fue significativo ( $P < 0.10$ ). La materia grasa en estado globular es la causa del aumento en viscosidad de la leche en comparación con otros fluidos (Alais y Godina 2003) sin embargo, debido a que no existe influencia de las variables independientes ni interacción, la viscosidad de la leche no cambia, siendo esta de 0.007 Pa·s.

**Grasa láctea.** Las variables independientes (gramos de aceite de maíz diario y gramos de concentrado por litro de leche) no presentaron un efecto significativo ( $P < 0.10$ ). Se realizó un factor de corrección de 4% para poder comparar la concentración de grasa entre tratamientos sin embargo, debido a que no existe influencia de las variables independientes esto pudo haber sido influenciado por factores climáticos que afectan el consumo de materia seca, especialmente la fibra y estos afectan factores fermentativos del rumen provocando alta variabilidad en concentración de grasa (Manterola 2007).

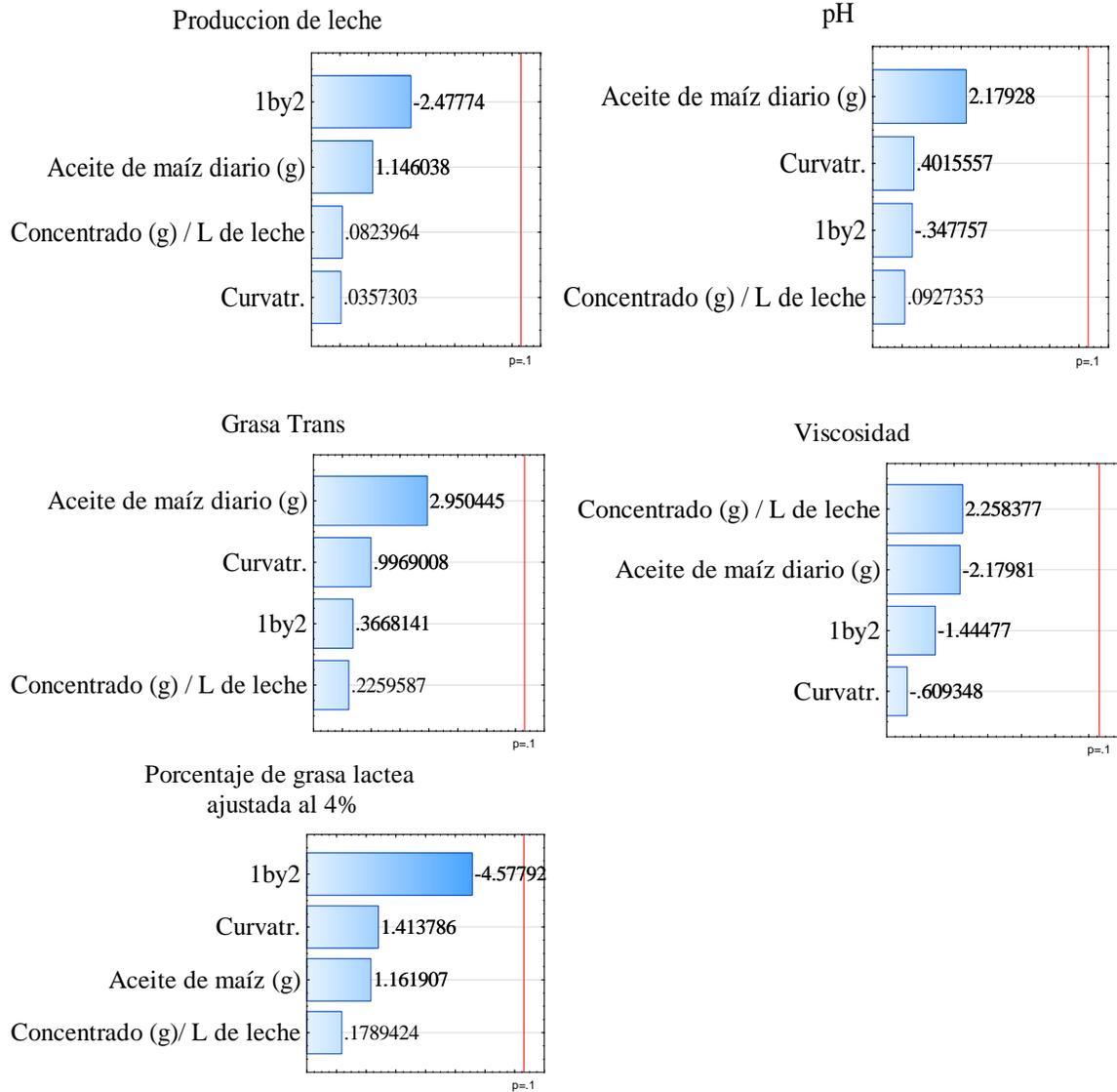


Figura 8. Diagrama de Pareto evaluando la influencia de las variables independientes, su interacción (1by2) y posible curvatura sobre la producción de leche (L), pH, viscosidad (Pa·s), grasa láctea y grasa trans (%).

En la Figura 9 se observa un análisis de los puntos óptimos en los cuales se obtiene la mayor calidad de leche al menor costo. Se determinó que el punto óptimo de calidad de leche y costo por litro de leche fue al implementar una cantidad de 385 gramos de concentrado/litro de leche y al suplementar en la dieta 360 gramos diarios de aceite de maíz. Sin embargo, es necesario considerar puntos axiales o un desplazamiento de estos puntos para futuras investigaciones dado que los puntos estimados forman parte de los extremos del análisis factorial. Será importante al momento de dislocar utilizar el valor de 385 gramos de concentrado/litro de leche y el valor de 360 gramos como punto central para evaluar si hay una mejor respuesta de estos valores y hasta qué punto es factible producir esta leche diferenciada.

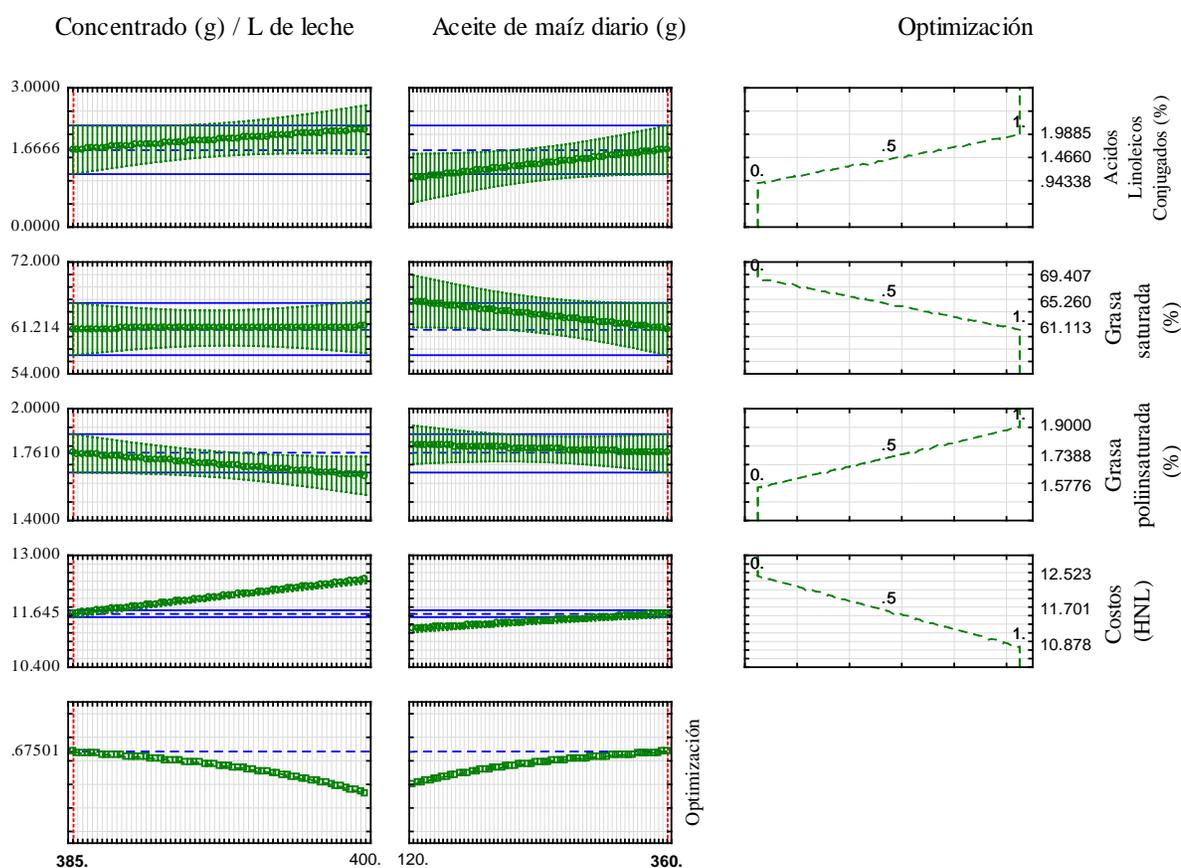


Figura 9. Función de utilidad de las variables independientes sobre la cantidad de ácidos linoleicos conjugados, grasa poliinsaturada, grasa saturada y costos.

**Proyección nutricional.** Una vez determinado el punto óptimo que se describe en la Figura 9, se realizó una proyección de su perfil de ácidos grasos identificando el porcentaje de mejora, cantidad de ALC, porcentaje de grasa saturada y poliinsaturada. El punto óptimo y su efecto sobre el perfil de ácidos grasos fueron calculados utilizando las ecuaciones 3, 5, 6 y 8 con el fin de simular el perfil de ácidos grasos en productos lácteos de Zamorano. Realizando la predicción en dos productos, uno alto en grasa y otro bajo en grasa en este caso queso Zamodelfia y Yogur natural Zamorano. El zamodelfia se escogió por su alto contenido graso que permite mejorar su perfil lipídico generando una diferenciación percibida por los consumidores. El yogur natural se escogió debido a que este producto está orientado a un nicho de mercado enfocado en productos naturales que estarían dispuestos a pagar por un perfil lipídico mejorado. Generalmente una leche de naturaleza convencional producida mediante un sistema de producción extensivo tiende a contener un total de  $0.59 \pm 0.41$  por ciento de ALC en su grasa, un promedio de  $66.94 \pm 3.09$  por ciento de grasa saturada y un total de grasa insaturada de  $29.92 \pm 2.84$  por ciento (Bonet *et al.* 2011). Estudios en Zamorano han indicado rangos de ALC variando de un 0.11% a un 0.71% en la grasa láctea (Marzano 2013). Utilizando el punto óptimo se logró mejorar el perfil lipídico de la leche producida por vacas Jersey en el establo de Zamorano. Al implementar el punto óptimo se obtuvo un perfil de ácidos grasos con una reducción de 6.4% de grasa saturada y un incremento de ALC de 183% con relación a un producto elaborado con leche convencional.

Con el fin de evaluar la mejora en el perfil lipídico en los dos productos lácteos se puede observar determinados incrementos en el cuadro 11, obteniendo un incremento significativo en la cantidad de miligramos aportados por dichos alimentos. Sin embargo, no cumplen con el requerimiento diario que recomienda la FDA de 1.5 gramos por porción consumiendo un valor recomendado de dos porciones diarias (Cho 2009). Continuando con los valores optimizados del cuadro 11 se observa que estos productos yogur natural y queso Zamodelfia, proporcionan, 1.5% y 5.8% respectivamente del valor diario sugerido para brindar beneficios a la salud.

Cuadro 11. Perfil lipídico de yogur natural y zamodelfia por ración.

Producto	Tipo de Leche	
	Convencional	Optimizada
<b>Yogur natural</b>		
Grasa Total (gramos)	4	4
Grasa saturada (gramos)	2.5	2.4
ALC (mg)	23.6	66.8
<b>ALC totales por envase (mg)</b>	<b>23.6</b>	<b>66.8</b>
<b>Zamodelfia</b>		
Grasa Total (gramos)	2	2
Grasa saturada (gramos)	1.5	1.2
ALC (mg)	11.8	33.4
<b>ALC totales por envase (mg)</b>	<b>94.4</b>	<b>267.2</b>

ALC: Ácido linoleico conjugado

Comparando los costos de estos productos entre una fortificación con ALC comerciales con una síntesis natural, la manera sintética emplea únicamente HNL 0.5 por envase en el caso de yogur natural y en el caso del queso Zamodelfia esta puede representar un costo adicional de HNL 1.7 por envase. Los costos de incrementar ALC naturalmente mediante la manipulación del alimento, serían de HNL 0.56 por envase en el caso del yogur natural y HNL 2.2 para queso Zamodelfia, evidenciando un incremento en los costos por envase.

## 4. CONCLUSIONES

- El tratamiento que mejor perfil lipídico proporciona en la grasa láctea fue de 360 gramos de aceite de maíz diario y 385 gramos de concentrado por litro de leche producido.
- Se determinó que el aceite de maíz diariamente suplementado es la variable de mayor influencia en la producción de ácidos linoleicos conjugados el cual tiene un efecto positivo, generando de esta manera la siguiente formula predictiva, Ácidos linoleicos conjugados =  $0.697 + 0.0033X_1$ .
- El incremento de aceite de maíz diariamente suplementado permite reducir el porcentaje de grasas saturadas así mismo, un incremento excesivo de suplementación puede reducir la proporción de grasas poliinsaturadas en la matriz lipídica de la leche.

## **5. RECOMENDACIONES**

- Validar en el campo la aplicabilidad de la fórmula de proyección de ácidos linoleicos conjugados con el fin de verificar su precisión y exactitud al momento de predecir este compuesto en productos lácteos.
- Realizar un análisis con la misma metodología incluyendo valores axiales que permitan realizar una mejor descripción de los datos proyectados para predecir el comportamiento de grasas poliinsaturadas y saturadas.
- Evaluar la cantidad de grasa por vaca para eliminar la variabilidad ocasionada por la producción de leche dentro del mismo tratamiento.

## 6. LITERATURA CITADA

Alais C, Godina AL. 2003. Ciencia de la leche: Principios de técnica lechera. Reverté. ISBN: 9788429118155. [Consultado 24 sep 2017]. Disponible en: [https://books.google.hn/books?id=bW\\_ULacGBZMC](https://books.google.hn/books?id=bW_ULacGBZMC).

AOCS (American Oil Chemists Society Official Method) 2017. Ce 2b-11. . [Consultado 24 sep 2017]. Disponible en: <https://aocs.personifycloud.com/PersonifyEbusiness/Store/ProductDetails.aspx?productId=112493>.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 2002. [Consultado 2 sep 2017]. Disponible en: [http://www.aocofficialmethod.org/index.php?main\\_page=product\\_info&products\\_id=220](http://www.aocofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&products_id=220).

Ballesteros-Vásquez MN, Valenzuela-Calvillo LS, Artalejo-Ochoa E, Robles-Sardin AE. 2012. Ácidos grasos trans: Un análisis del efecto de su consumo en la salud humana, regulación del contenido en alimentos y alternativas para disminuirlos. *Nutrición Hospitalaria*. 27(1):54–64.

Bargo F, Muller LD, Kolver ES, Delahoy JE. 2003. Invited Review: Production and Digestion of Supplemented Dairy Cows on Pasture. *Journal of Dairy Science*. 86(1):1–42.

Bonet et al. 2011. Análisis comparativo de la calidad y perfil de ácidos grasos de la leche de vacuno procedente de explotaciones con manejo convencional y ecológico. [Consultado 10 sep 2017]. Disponible en: [http://cifacantabria.org/Documentos/cys\\_38\\_Analisis\\_acidos\\_grasos.pdf](http://cifacantabria.org/Documentos/cys_38_Analisis_acidos_grasos.pdf).

Cancer Care of Western New. 2014. Vitamina B2. USA. [Consultado 20 sep 2017]. Disponible en: [www.cancercarewny.com](http://www.cancercarewny.com).

Cardona MG, Sorza JD, Posada SL, Carmona J, Ayala SA, Alvarez OL. 2016. Establecimiento de una base de datos para la elaboración de tablas de contenido nutricional de alimentos para animales. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 15(2):240–246.

Cho SS. 2009. Weight Control and Slimming Ingredients in Food Technology. Wiley. ISBN: 9780813819709. [Consultado 20 sep 2017]. Disponible en: <https://books.google.hn/books?id=zh3579U-WEQC>.

Cisint et al. 2007. Influencia de la alimentación en la composición química de la leche bovina, en la cuenca tambera del dpto. Trancas, tucumán. [Consultado 19 sep 2017]. Disponible en: <http://www.faz.unt.edu.ar/images/stories/pdfs/pva/0943.pdf>.

FEDNA (Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal). 2010. Aceites y oleínas de origen vegetal. España. [Consultado 17 sep 2017]. Disponible en: [http://www.fundacionfedna.org/ingredientes\\_para\\_piensos/aceites-y-ole%C3%ADnas-de-origen-vegetal](http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/aceites-y-ole%C3%ADnas-de-origen-vegetal).

Gallardo M. 2010. Soja: Harinas de Extracción para la Alimentación del Ganado. [Consultado 21 sep 2017]. Disponible en: [www.agrolluvia.com](http://www.agrolluvia.com).

Gómez P. 2010. Efecto de la suplementación de la dieta ovina con distintas fuentes lipídicas sobre el perfil de ácidos grasos de la leche. [Consultado 17 sep 2017]. Disponible en: <http://eprints.ucm.es/11253/1/T32129.pdf>.

Griinari JM, Corl BA, Lacy SH, Chouinard PY, Nurmela KVV, Bauman DE. 2000. Conjugated Linoleic Acid Is Synthesized Endogenously in Lactating Dairy Cows by  $\Delta 9$ -Desaturase. *J. Nutr.* 130(9):2285–2291.

Herdt T. 2017. Nutritional Requirements of Dairy Cattle - Management and Nutrition - Veterinary Manual. [Consultado 5 oct 2017]. Disponible en: <http://www.msdtvetmanual.com/management-and-nutrition/nutrition-dairy-cattle/nutritional-requirements-of-dairy-cattle>.

HunterLab. 2008. Hunter L, a, b Color Scale. Virginia USA. [Consultado 20 sep 2017]. Disponible en: <https://www.hunterlab.se/wp-content/uploads/2012/11/Hunter-L-a-b.pdf>.

López R, García Muñoz JG, Islas Espejel A, Ramírez Valverde R, Ruíz Flores A, Ponce Candelario I. 2013. Los isómeros cis-9, trans-11 y trans-10, cis-12 de ácido linoleico conjugado y su relación con producción de leche de vacas Holstein-Friesian. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias.* 4(3):339–360.

Manterola. 2007. Manejo nutricional y composición de la leche. El desafío de incrementar los sólidos totales en la leche una necesidad de corto plazo. *Virtual Pro.* [Internet]. [Consultado 29 sep 2017]. Disponible en: <https://www.revistavirtualpro.com/biblioteca/manejo-nutricional-y-composicion-de-la-leche-el-desafio-de-incrementar-los-solidos-totales-en-la-leche-una-necesidad-de-corto-plazo>

Marzano B. LA. 2013. Efecto de la alimentación de diferentes fuentes de forrajes en el ható vacuno sobre el perfil de ácidos grasos de la leche entera cruda de Zamorano. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2013. [Consultado 25 ago 2017]. Disponible en: [spa. https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1806/1/AGI-2013-T024.pdf](https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1806/1/AGI-2013-T024.pdf).

Montoya-López J, Giraldo-Giraldo Ga, Lucas-Aguirre Jc. 2012. Determinación del índice de blancura en harina de trigo comercial. *Vitae*. 19(1):S415-S416. es.

Noone EJ, Roche HM, Nugent AP, Gibney MJ. 2002. The effect of dietary supplementation using isomeric blends of conjugated linoleic acid on lipid metabolism in healthy human subjects. *Br J Nutr*. 88(3):243–251. eng. doi:10.1079/BJN2002615.

Orellana Q. DF. 2016. Influencia de la suplementación con tres tipos de aceites vegetales en la producción de ácido linoleico conjugado en leche de vacas Jersey semiestabuladas [Tesis] Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-San Antonio de Oriente. 7p.

Ortega R *et al.* 2013. Perfil de ácidos grasos en leche de vacas Chinampas (*Bos taurus*) alimentadas con forraje fresco de matorral sarcocauléscente o heno de alfalfa. *Archivos de medicina veterinaria*. 45(1):45–51. doi:10.4067/S0301-732X2013000100008.

Palmquist DL. 1996. Utilización de lípidos en dietas de rumiantes. Madrid; [Consultado 8 sep 2017]. Disponible en: [www.montanba.com.ar/download/37083/utideli.pdf](http://www.montanba.com.ar/download/37083/utideli.pdf)

Pineda D. 2013. Tendencias de innovación en el sector lácteo. El Salvador: Ministerio de economía del Salvador. [Consultado 18 jul 2017]. Disponible en: <http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/3169/Tendencias%20de%20innovacion%20en%20el%20sector%20lácteo.pdf>.

Rettig KM. 2014. El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *AgroSur*; [Consultado 9 sep 2017]. 42(2):39–48. Disponible en: <http://www.agrarias.uach.cl/>.

Rocha G. 2009. Obtencao e caracterizao de films biodegradáveis a partir de misturas de amido de mandioca e extrato protéico de soja: [Tesis]. Rio de Janeiro, Brasil, Universidad Federal Rural do Rio de Janeiro. 70p.

Rodrigues MI, Iemma AF. 2015. Experimental design and process optimization. Boca Raton, London: CRC Press Taylor & Francis Group. xviii, 318 pages. ISBN: 9781482299557.

Rodríguez-Alcalá LM, Villar-Tajadura A, Juárez M, Fontecha J. 2013. Commercial Conjugated Linoleic Acid (CLA) Fortified Dairy Products. In: Preedy VR, Srirajaskanthan R, Patel VB, editors. *Handbook of food fortification and health: From concepts to public health applications*. New York: Humana Press. p. 173–184 (Nutrition and health series) ISBN:978-1-4614-7076-2.

Salinas Moreno Y, Saavedra Arellano S, Soria Ruíz J, Espinosa Trujillo E. 2008. Características fisicoquímicas y contenido de carotenoides en maíces (*Zea mays* L.) amarillos cultivados en el Estado de México. *Agricultura técnica en México*. 34(3):357–364.

Sienra R. 2009. Acidosis en bovinos [Internet]. Uruguay: [Consultado 20 sep 2017]. Disponible en: [www.planagro.com.uy/publicaciones/revista](http://www.planagro.com.uy/publicaciones/revista).

Troncoso H. 2014. Producción de Leche y Biosíntesis. México: Depto. de Nutrición Animal y Bioquímica. FMVZ. UNAM; [Consultado 3 Mayo 2017]. Disponible en: <http://bmeditores.mx/produccion-de-leche-y-biosintesis/>.

Turpeinen AM, Mutanen M, Aro A, Salminen I, Basu S, Palmquist DL, Griinari JM. 2002. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am J Clin Nutr.* 76(3):504–510. eng.

Vargas-Bello-Pérez E, Garnsworthy PC. 2013. Trans fatty acids and their role in the milk of dairy cows. *Ciencia e Investigación Agraria.* 40(3):449–473. en. doi:10.7764/rcia.v40i3.1156.

Vicente F. 2009. Modificación de la composición de la grasa de la leche mediante pastoreo. [Consultado 27 sep 2017]. Disponible en: [www.serida.org/publicacionesdetalle.php?id=3798](http://www.serida.org/publicacionesdetalle.php?id=3798)

Walgreens. 2017. Weight Management Supplements - Fitness & Nutrition. [Consultado 24 Sep 2017]. Disponible en: <https://www.walgreens.com/store/c/productlist/cla-weight-management-supplements/N=361167-2000013294>.

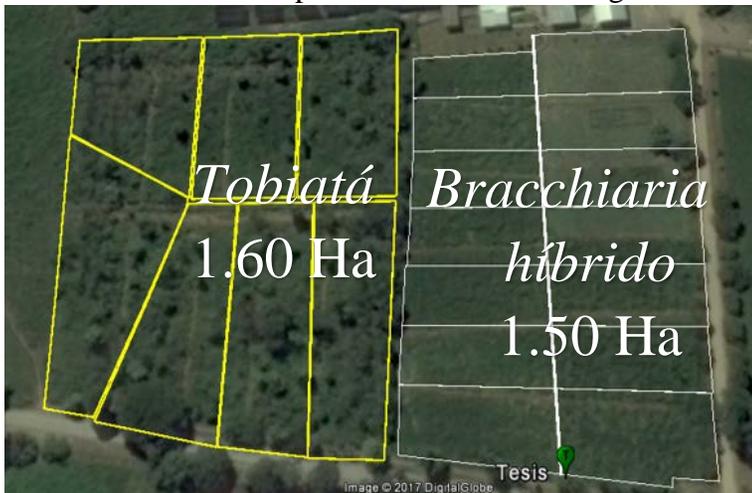
Wheeler B. 1993. Guidelines for feeding dairy cows. Ontario: Ministry of Agriculture and Food. 1 folded sheet ; (Publication / Ontario, Ministry of Agriculture and Food; vol. 101). ISBN: 9780777808702.



**Anexo 3.** Vacas Jersey distribuidas por tratamiento.



**Anexo 4.** División de potreros en la unidad de ganado lechero.



**Anexo 5.** Muestreo de leche en la unidad de ganado lechero, Zamorano.



**Anexo 6.** Características del hato lechero según la distribución de los tratamientos.

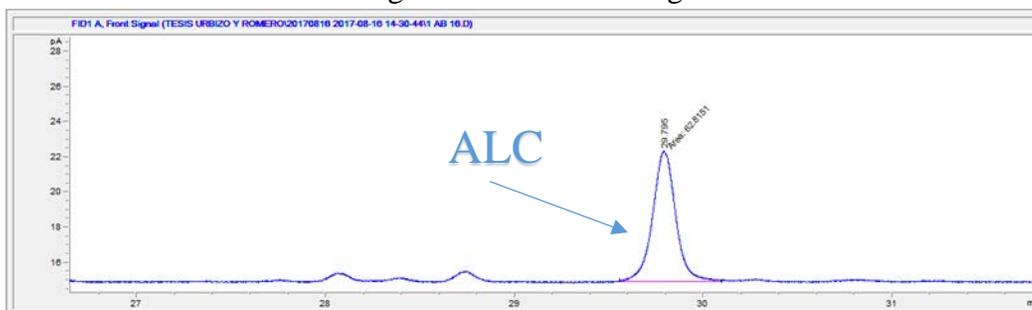
<b>Tratamiento</b>	<b>Producción (Kg leche)</b>	<b>Número de partos</b>	<b>CC</b>	<b>Días en lactancia</b>
<b>1</b>	12.10	3	3.00	168
<b>2</b>	16.50	3	2.75	136
<b>3</b>	15.30	3	2.75	177
<b>4</b>	13.50	3	3.00	188
<b>5</b>	15.60	3	3.00	204
<b>6</b>	15.50	2	3.00	199

CC: Condición Corporal

**Anexo 7.** Extracción de grasa láctea por el método Babcock.



**Anexo 8.** Lectura de cromatografía de muestras de grasa láctea.



**Anexo 9.** Dieta hipocalórica suplementada al ganado.

<b>Formulación alimento balanceado</b>	
<b>Ingredientes</b>	<b>Libras</b>
Maíz molido fino	70
Harina de soya	20
Melaza	7
Sal mineral	2
Urea	1
Procreatin	0.15
Rumensin	0.022
<b>Total</b>	<b>100</b>

**Anexo 10.** Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado en producción de leche.

<b>Coefficientes</b>	<b>Producción de leche</b>	<b>Probabilidad</b>
Intercepto	-1.40E+02	2.89E-01
X <sub>1</sub>	6.35E-01	2.42E-01 n.s.
X <sub>2</sub>	3.91E-01	2.66E-01 n.s.
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	-1.60E-03	2.44E-01 n.s.
Falta de ajuste		9.77E-01 n.s.

X<sub>1</sub>: Aceite diario (g), X<sub>2</sub>: Concentrado (g) / L de leche, n.s.: No significativa con P<0.10.

**Anexo 11.** Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado en pH de la leche.

<b>Coefficientes</b>	<b>pH</b>	<b>Probabilidad</b>
Intercepto	6.36E+00	1.38E-01
X <sub>1</sub>	2.03E-03	7.64E-01 n.s.
X <sub>2</sub>	1.26E-03	7.84E-01 n.s.
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	-4.63E-06	7.87E-01 n.s.
Falta de ajuste		7.57E-01 n.s.

X<sub>1</sub>: Aceite diario (g), X<sub>2</sub>: Concentrado (g) / L de leche, n.s.: No significativa con P<0.10.

**Anexo 10.** Coeficiente de regresión y su probabilidad del modelo de regresión lineal aplicado en el contenido de grasas trans en la leche.

<b>Coefficientes</b>	<b>Grasas trans</b>	<b>Probabilidad</b>
Intercepto	2.39E+01	8.38E-01
X <sub>1</sub>	-1.07E-01	8.08E-01 n.s.
X <sub>2</sub>	-5.33E-02	8.58E-01 n.s.
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	3.21E-04	7.76E-01 n.s.
Falta de ajuste		5.01E-01 n.s.

X<sub>1</sub>: Aceite diario (g), X<sub>2</sub>: Concentrado (g) / L de leche, n.s.: No significativa con P <0.10.

**Anexo 13. Etiqueta nutricional queso Zamodelfia y yogur natural.**

<b>Nutrition Facts</b>	
<b>Datos de Nutrición</b>	
Serving Size 30 g (30g) / Tamaño por Ración 30 g (30g)	
Servings Per Container approx. 8 / Raciones por Envase aprox. 8	
Amount Per Serving / Cantidad por Ración	
Calories / Calorías 20	Calories from Fat / Calorías de Grasa 20
% Daily Value* / % Valor Diario*	
<b>Total Fat / Grasa Total</b> 2g	<b>3%</b>
Saturated Fat / Grasa Saturada 1.5g	<b>8%</b>
Trans Fat / Grasa Trans 0g	
<b>Cholesterol / Colesterol</b> 5mg	<b>2%</b>
<b>Sodium / Sodio</b> 115mg	<b>5%</b>
<b>Total Carbohydrate / Carbohidrato Total</b> 0g	<b>0%</b>
Dietary Fiber / Fibra Dietética 0g	<b>0%</b>
Sugars / Azúcares 0g	
<b>Protein / Proteínas</b> 0g	
Vitamin A / Vitamina A	<b>2%</b>
Vitamin C / Vitamina C	<b>0%</b>
Calcium / Calcio	<b>0%</b>
Iron / Hierro	<b>0%</b>

\*Percent Daily Values are based on a 2,000 calorie diet. Your daily values may be higher or lower depending on your calorie needs.

\*Los Porcentajes de Valores Diarios están basados en una dieta de 2,000 calorías. Sus valores diarios pueden ser mayores o menores, dependiendo de las calorías que usted necesite.

	Calories / Calorías: 2,000	2,500
Total Fat / Grasa Total	Less than / Menos de 65g	80g
Saturated Fat / Grasa Saturada	Less than / Menos de 20g	25g
Cholesterol / Colesterol	Less than / Menos de 300mg	300mg
Sodium / Sodio	Less than / Menos de 2,400mg	2,400mg
Total Carbohydrate / Carbohidrato Total	300g	375g
Dietary Fiber / Fibra Dietética	25g	30g

Calories per gram: / Calorías por gramo:  
Fat/Grasa 9 • Carbohydrate/Carbohidrato 4 • Protein/Proteína 4

<b>Nutrition Facts</b>	
<b>Datos de Nutrición</b>	
Serving Size 225 g (225g) / Tamaño por Ración 225 g (225g)	
Servings Per Container approx. 1 / Raciones por Envase aprox. 1	
Amount Per Serving / Cantidad por Ración	
Calories / Calorías 220	Calories from Fat / Calorías de Grasa 35
% Daily Value* / % Valor Diario*	
<b>Total Fat / Grasa Total</b> 4g	<b>6%</b>
Saturated Fat / Grasa Saturada 2.5g	<b>13%</b>
Trans Fat / Grasa Trans 0g	
<b>Cholesterol / Colesterol</b> 20mg	<b>7%</b>
<b>Sodium / Sodio</b> 160mg	<b>7%</b>
<b>Total Carbohydrate / Carbohidrato Total</b> 36g	<b>12%</b>
Dietary Fiber / Fibra Dietética 0g	<b>0%</b>
Sugars / Azúcares 34g	
<b>Protein / Proteínas</b> 10g	
Vitamin A / Vitamina A	<b>8%</b>
Vitamin C / Vitamina C	<b>4%</b>
Calcium / Calcio	<b>25%</b>
Iron / Hierro	<b>0%</b>

\*Percent Daily Values are based on a 2,000 calorie diet. Your daily values may be higher or lower depending on your calorie needs.

\*Los Porcentajes de Valores Diarios están basados en una dieta de 2,000 calorías. Sus valores diarios pueden ser mayores o menores, dependiendo de las calorías que usted necesite.

	Calories / Calorías: 2,000	2,500
Total Fat / Grasa Total	Less than / Menos de 65g	80g
Saturated Fat / Grasa Saturada	Less than / Menos de 20g	25g
Cholesterol / Colesterol	Less than / Menos de 300mg	300mg
Sodium / Sodio	Less than / Menos de 2,400mg	2,400mg
Total Carbohydrate / Carbohidrato Total	300g	375g
Dietary Fiber / Fibra Dietética	25g	30g

Calories per gram: / Calorías por gramo:  
Fat/Grasa 9 • Carbohydrate/Carbohidrato 4 • Protein/Proteína 4