Cuantificación de isómeros trans de ácidos grasos en leche cruda de la Planta de Lácteos de Zamorano por cromatografía de gases

Juan Antonio Ruano Ortiz

Honduras
Diciembre, 2005

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA

Cuantificación de isómeros trans de ácidos grasos en leche cruda de la Planta de Lácteos de Zamorano por cromatografía de gases

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

Presentado por:

Juan Antonio Ruano Ortiz

Honduras
Diciembre, 2005

El autor concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.

_____

Juan Antonio Ruano Ortiz

Honduras
Diciembre, 2005

Cuantificación de isómeros trans de ácidos grasos en leche cruda de la Planta de Lácteos de Zamorano por cromatografía de gases

Presentado por:

Juan Antonio Ruano Ortiz

Aprobado:

_____	_____
Francisco J. Bueso, Ph.D. Asesor Principal	Raúl Espinal, Ph.D. Director Carrera de Agroindustria
_____	_____
Luis F. Osorio, Ph.D. Asesor	George Pilz, Ph.D Decano Académico
_____	_____
Edward Moncada, M.A.E Asesor	Kenneth Hoadley, D.B.A. Rector

DEDICATORIA

A mis padres Juan Antonio Ruano Orellana y Dora Lucrecia de de Fatima Ortiz Cabrera.

A mis abuelos Gustavo Ortiz Marroquín, Otto Rolando Ruano Reyes, Dora Cabrera Palma y Edna Alicia Orellana Villareal.

A mis queridos hermanos Luz Andrea y Rodrigo José.

A la gente que confía en mí.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la fuerza que me ha dado para superar todos los obstáculos y para seguir creciendo como ser humano y profesional.

A mi amado padre Juan Antonio Ruano Orellana por los 16 años más increíbles de mi vida y por enseñarme desde siempre el valor del trabajo y la honestidad.

A mi amada madre Lucrecia de Fátima Ortiz Cabrera, por incentivarme a alcanzar mis metas y por ayudarme a tomar las decisiones más difíciles que he tenido que afrontar, su ejemplo es mi mayor orgullo en esta vida.

A mis queridos hermanos por su apoyo incondicional y por inyectarme siempre las ganas de luchar y alcanzar mis objetivos.

A mis ejemplares abuelos Edna Orellana, Gustavo Ortiz, Dora Cabrera y Otto Rolando Ruano Reyes por brindarme el más claro ejemplo de trabajo duro y amor fraternal, su apoyo fue realmente importante para lograr este paso tan importante en mi vida.

A mis amados tíos que siempre me apoyaron en los momentos difíciles de mi vida y la de mi familia, nunca olvidare los consejos, abrazos y apoyo incondicional durante estos años.

A mis apreciados mentores Luis Dubón y Luis Carias por los múltiples consejos y amistad sincera.

A mis asesores Francisco Bueso, Luis Osorio y Edward Moncada por su ayuda consejos y paciencia en la realización de este proyecto.

Al personal del Centro de Evaluación de Alimentos en especial a Iván Maradiaga por sus palabras de aliento y sinceridad.

A mis hermanos de Zamorano, Julio Gálvez, Carlos Ac, Gustavo Pivaral, Jorge Cardona, David Maradiaga, Victor Taleón, Santiago Torres, Esteban Lalaleo, Alba Ruiz, Gerson Morales, Juan Carlos Robelo, Keila Diaz, Sebastián Vélez, Ricardo Botero, Rolando Pineda, Daniel Bravo, Jorge Castilblanco y queridos colegas de la Carrera de Agroindustria por reír conmigo, compartir malos y buenos momentos y por soportarme cuando no tenían que hacerlo. Muchos éxitos amigos.

AGRADECIMIENTOS A PATROCINADORES

A mi familia y a la fundación Nippon por los cuatro años de estudio dentro de Zamorano.

RESUMEN

Ruano, Juan.2005. Cuantificación de isómeros trans de ácidos grasos en leche cruda de la Planta de Lácteos de Zamorano por cromatografía de gases. Proyecto de Graduación del Programa de Ingeniería en Agroindustria. Zamorano, Honduras. 54p.

El perfil de AG (ácidos grasos) de la leche es un factor determinante de su calidad. La leche cruda posee 48-87% de grasas saturadas y 22.5-38% de grasas insaturadas. La capacidad de modificar el perfil de AGT (ácidos grasos trans) mediante la nutrición animal resulta de interés debido a los beneficios que brindan ciertos AGT sobre la salud humana. Estos efectos serían atribuibles al isómero cis-9, trans-11 C18:2 presente en la leche y denominado genéricamente "CLA" (Acido linoleico conjugado, por sus siglas en inglés Conjugated Linoleic Acid) reconocido por reducir el colesterol en el plasma y por sus propiedades anticarcinogénicas. Este estudio cuantificó el contenido de AGT en la leche cruda de los proveedores de la Planta de Lácteos de Zamorano (Establo Zamorano, Montoya, Maier, Casco, G. Barahona, R. Barahona y AGAZA). Las muestras se recolectaron cuatro días y los perfiles de AG resultantes se obtuvieron mediante cromatografía de gases utilizando una columna DB-23 Supelco. El perfil de AG obtenido por cada proveedor se encontró dentro de los rangos establecidos. La concentración total de AGT en la leche varió significativamente entre productores, desde 0.50 (G. Barahona) hasta 5.6 g/100 g de grasa (Montoya). El contenido del CLA cis-9, trans-11 C18:2 en la leche producida en el Establo de Zamorano fue significativamente mayor al resto. La leche de los otros productores posee el isómero trans-11 C18:1 por lo que sus beneficios dependerán de la acción de la enzima delta-9 desaturasa en el organismo humano. El tipo de pasto y concentrado utilizados en la alimentación del ganado influenció significativamente la producción de AGT. Se recomienda estudiar los cambios en el perfil de AGT en la leche del verano al invierno y el efecto que puedan tener las dietas implementadas en el ganado.

Palabras clave: Ácidos linoleicos conjugados, lipoproteínas de baja densidad, ésteres metílicos.

_____

Francisco J. Bueso, Ph.D.

CONTENIDO

	Portadilla	i
	Autoría	ii
	Página de firmas	iii
	Dedicatoria	iv
	Agradecimientos	v
	Agradecimiento a patrocinadores	vi
	Resumen	vii
	Contenido	viii
	Índice de cuadros	x
	Índice de figuras	xi
	Índice de anexos	xii
1.	**INTRODUCCIÓN**	1
1.1.	GENERALIDADES	1
1.2.	OBJETIVOS	2
1.2.1.	Objetivo general	2
1.2.2.	Objetivos específicos	2
2.	**REVISIÓN DE LITERATURA**	3
2.1.	ÁCIDOS GRASOS TRANS EN LA LECHE DE VACA	3
2.2.	ÁCIDOS LINOLEICOS CONJUGADOS (CLA)	8
2.3.	BIOHIDROGENACIÓN RUMINAL	9
2.4.	IMPACTO DE LOS ISÓMEROS “CLA” EN LA SALUD HUMANA	10
2.5.	CUANTIFICACIÓN DE ISOMEROS TRANS EN LECHE	10
3.	**MATERIALES Y METODOS**	12
3.1.	UBICACIÓN	12
3.2.	EQUIPOS, UTENSILIOS Y SUMINISTROS	12
3.2.1.	Preparación de muestra	12
3.2.2.	Método cromatográfico	12
3.2.3.	Programas de aplicación	13
3.3.	METODOLOGÍA	13
3.3.1.	Diseño Experimental	13
3.3.2.	Preparación de las muestras	14
3.3.3.	Preparación de muestra y de estándares cromatogràficos	14
3.3.4.	Análisis de muestras en el Cromatógrafo de Gases (GC)	16

3.3.5. Análisis estadístico..... 16

4. **RESULTADOS Y DISCUSIÓN** 17
4.1. PROVEEDORES DE LA PLANTA DE LÁCTEOS DE ZAMORANO... 17
4.2. COMPARACIÓN DE ACIDOS GRASOS ENTRE PRODUCTORES. ... 18

5. **CONCLUSIONES**..... 22

6. **RECOMENDACIONES** 23

7. **BIBLIOGRAFÍA**..... 24

8. **ANEXOS**..... 25

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro

1.	Perfil de ácidos grasos de leche cruda	4
2.	Concentración de isómeros trans en la grasa de leche de vaca alimentada con pasto y ensilaje	5
3.	Perfil de ácidos grasos en leche cruda por estación climática en Alemania	6
4.	Factores dentro de la dieta del ganado vacuno que afectan las concentraciones de los ácidos linoleicos conjugados (CLA)	7
5.	Codificación de proveedores.....	13
6.	Distribución de muestreos.....	14
7.	Condiciones de manejo y cantidad de leche recibida por productor en la planta de lácteos.....	17
8.	Porcentaje de grasa en la leche por productor	18
9.	Contenido de grasa saturada e insaturada en la leche cruda por proveedor de la planta de lácteos de Zamorano.....	19
10.	Perfil de ácidos grasos de leche cruda por proveedor en la Planta de Lácteos de Zamorano (g/100g)	20
11.	Concentración de ácidos grasos trans de leche cruda por proveedor en Planta de Lácteos de Zamorano	21

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura

1.	Estructura química del ácido linoleico conjugado cis-9, cis-12 18:2 (A), cis-9, trans-11 CLA (B) y trans-11 18:1 (C).	8
2.	Vías dentro del rumen para la síntesis de cis-9, trans-11 CLA en la vaca lechera.....	9
3.	Método de transformación de ácidos grasos en ésteres metílicos.....	15

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo

1.	Variación de las lipoproteínas plasmáticas según la ingesta de ácidos trans.	26
2.	Contenido de ácidos grasos trans, en gramos, de los alimentos.	27
3.	Contenido de ácidos grasos trans en la leche en diferentes países	28
4.	Cromatograma del estándar de Hexano	29
5.	Cromatograma estándar RM5	30
6.	Cromatograma estándar RM6	31
7.	Cromatograma estándar ácido oleico trans 9, C18:1	32
8.	Cromatograma estándar ácido linoleico	33
9.	Cromatograma de leche del Establo Zamorano	34
10.	Cromatograma de la leche de René Barahona	35
11.	Cromatograma de la leche de Gustavo Barahona	36
12.	Cromatograma de la leche de Julio Maier	37
13.	Cromatograma de la leche de Montoya	38
14.	Cromatograma de la leche de Casco	39
15.	Cromatograma de la leche de AGAZA	40
16.	Contrastes ortogonales	41

1. INTRODUCCIÓN

1.1. GENERALIDADES

Según Dadán, M (2004), los ácidos grasos trans son ácidos grasos insaturados de 18 carbonos en los que, al menos, un doble enlace está en posición trans (Anexo1). Existen dos tipos de trans en los alimentos, los generados naturalmente en el rumen de los animales y los que resultan del proceso de hidrogenación de los aceites vegetales (maíz, soya, canola, girasol, maní, algodón) para hacerlos más estables y facilitar su solidificación.

De acuerdo con Jensen (2002), los ácidos grasos insaturados de forma natural presentan configuración geométrica cis en los dobles enlaces y sólo pueden ser transformados en trans por medio de una elaidización mediante tres procesos principales: biohidrogenación, que tiene lugar por bacterias en el rumen de los animales poligástricos; hidrogenación industrial, para la producción de grasas plásticas y calentamiento de grasas que tienen lugar en refinación de aceites y grasas principalmente en los procesos de desodorización y procesos de fritura.

La composición en ácidos grasos de la leche es un factor determinante de la calidad de la misma, ya que algunos de ellos presentan efectos altamente positivos sobre la salud humana y otros no (Nutrinfo, 2003). La composición de la grasa butirosa obtenida en los sistemas de producción no resulta ideal debido al exceso en ácidos grasos saturados (generadores de colesterol) y a un déficit en ácidos grasos mono y poliinsaturados que son juzgados como más adecuados en nutrición humana. (Dadán, 2004). El contenido de ácidos grasos saturados en la grasa butírica es elevado, lo cual resulta en la aparición de afecciones cardíacas (Nutrinfo, 2003).

Entre los ácidos grasos saturados cabe mencionar que el ácido láurico ($C_{12:0}$), mirístico ($C_{14:0}$) y palmítico ($C_{16:0}$) elevan el colesterol total y el colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad “LDL” (Anexo 2) juzgadas como aterogénicas (Jensen 2002), mientras que el consumo de ácidos grasos de cadena corta a media ($C_{4:0}$ a $C_{10:0}$) no estaría asociado a riesgos de muerte por afecciones coronarias. El ácido esteárico ($C_{18:0}$) es considerado como neutro respecto a variaciones en los lípidos plasmáticos mientras que el ácido oleico ($C_{18:1}$) es un protector contra la aterogénesis debido a sus propiedades positivas sobre la concentración de lípidos plasmáticos.

Los ácidos grasos trans que se tratarán de evaluar en este estudio elevan los niveles sanguíneos de colesterol total asociado a las LDL (Anexo 2) mientras que el ácido

linoleico conjugado (cis 9, trans 11 18:2) resulta como protector contra dicha afección (Jensen, 2002). Los ácidos grasos trans provenientes de los aceites parcialmente hidrogenados o de las margarinas han sido asociados a muertes por afecciones coronarias, pero estos efectos negativos sobre la salud humana no serían atribuibles a los isómeros trans-11 C18:1 ó al cis-9, trans-11 ácido linoleico presentes en la leche (Zamora, 2005).

Según Nutrinfo (2003) el consumo de trans cercano al 2% de la energía total diaria resulta en un incremento del 93% en el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Las recomendaciones de diferentes organizaciones en Estados Unidos (FDA) y Europa, establecen que no debe superarse el 1% del total de las calorías diarias (alrededor de 4 g per cápita por día). (Dadán, 2004).

Según Dadan (2004), durante la Asamblea Mundial de la OMS, realizada en Ginebra, Suiza, en mayo del 2005, se difundieron recomendaciones globales sobre dieta, actividad física y salud, entre las que incluye "limitar la ingesta energética procedente de las grasas y eliminar los ácidos grasos trans a no ser de que estos sean benéficos para el organismo, como es el caso del cis- 9 trans-11 ácido linoleico".

El Centro de Evaluación de Alimentos de Zamorano (CEA) y la Planta de Lácteos, conscientes de estas tendencias y a la vanguardia en la formación de estudiantes líderes en la agroindustria alimentaría, pretenden ser pioneros en Honduras de la cuantificación de isómeros trans de ácidos grasos presentes en sus productos por lo que para dicho fin se pretende cuantificar los mismos en la leche cruda de recibo utilizada para elaborar todos los productos lácteos de Zamorano.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo general

Cuantificar isómeros trans de ácidos grasos en la leche cruda recibida en la Planta de Lácteos utilizando Cromatografía de Gases (GC).

1.2.2. Objetivos específicos

Identificación del perfil de ácidos grasos de la leche cruda proporcionada por cada uno de los proveedores en la Planta de Lácteos de Zamorano utilizando GC.

Cuantificar grasa insaturada en la leche cruda haciendo uso de cromatografía de gases.

Cuantificar isómeros trans de ácidos grasos en cada uno de los proveedores de leche cruda de la Planta de Lácteos por medio de Cromatografía de gases.

Comparar el porcentaje de isómeros trans de ácidos grasos en leche cruda asociándolo con las dietas manejadas entre los proveedores de la Planta de Lácteos.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ÁCIDOS GRASOS TRANS EN LA LECHE DE VACA

En cuanto al consumo de trans, se ha observado un rango considerablemente amplio de ingesta alrededor del mundo. Así, entre los países que encabezan la lista como mayores consumidores de ácidos grasos trans está Canadá, con cerca de 10-16 g/día o el equivalente a un 5% del total de energía diaria y esto se relaciona principalmente, con la ingesta de productos que utilizan lácteos como insumo (Nutrinfo, 2003) (Anexo 3).

En Estados Unidos se presentan consumos intermedios, alrededor de 6.2 g/ día (equivalente a 2.2% del total de energía). En el caso de Europa, estudios muestran que la ingesta fluctúa dentro de amplios rangos, como por ejemplo, en Holanda entre 4-10g/persona/día y en España unos 2.5 g/persona/día (Jensen, 2002).

En general, la tendencia mundial demuestra preocupación y toma de conciencia de los consumidores, industrias y profesionales de la salud y se ha observado una disminución en el consumo de trans desde la década de 1980 hasta la actualidad.

Aunque no existen investigaciones determinantes en este sentido, algunos autores postulan que se debe limitar el consumo de ácidos grasos trans a un máximo de 10 g por día (Dadán 2004), otros, como el Consejo de Nutrición de Dinamarca hablan de 2 g por día (Nutrinfo 2003) o un equivalente al 1% del total de energía consumida diariamente (Navarra 2004) El límite en el consumo puede variar según el grado de ejercicio físico de la persona así como con el ingreso paralelo de ácidos grasos esenciales.

De esta forma según Nutrinfo (2003) las compañías se anticipan a los requerimientos de la Administración Federal de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA) que establecen como obligatorio colocar el contenido de ácidos grasos trans en los alimentos como información nutricional en sus etiquetas a partir de enero de 2006 excluyendo los denominados CLA (ácidos linoleicos conjugados) por sus atributos benéficos a la salud.

Los ácidos grasos "trans" están presentes de forma natural en la leche, la leche bovina contiene ácidos grasos con efectos favorables sobre la salud humana y según Zamora (2005) la suplementación de la vaca permite modificar el perfil de dichos ácidos grasos.

El perfil de ácidos grasos ideal en leche cruda debería ser como el que se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Perfil ácidos grasos de leche cruda

Número de carbonos	Nombre común	Porcentaje (%)
4:0	Butírico	2-5
6:0	Caproico	1-5
8:0	Caprílico	1-3
10:0	Capricho	2-4
12:0	Laúrico	2-5
14:0	Mirístico	8-14
15:0	Pentadecanoico	1-2
16:0	Palmítico	22-35
16:1	Palmitoleico	1-3
17:0	Margárico	0.5-1.5
18:0	Esteárico	9-14
18:1*	Oleico	20-30
18:2**	Linoleico	1-3
18:3	Linolénico	0.5-2

* Contiene cerca del 3% del total de isómeros trans.

** Contiene del 80 al 90% de los trans y se denominan CLA (ácidos linoleicos conjugados).

Fuente: American Dairy Science Association, 2002.

Según INTA (2001), la leche es incluida dentro del grupo de los denominados "alimentos funcionales" definidos como capaces de inducir beneficios especiales sobre la salud del consumidor por encima de los nutrientes tradicionales que ellos aportan. La capacidad de poder modificar la composición en ácidos grasos a través de intervenciones nutricionales resulta de interés debido a dos aspectos principales:

1) Su marcada influencia sobre propiedades físicas de la leche para la industria.
2) Su influencia sobre propiedades terapéuticas especiales a través de efectos específicos de ciertos ácidos grasos sobre la salud humana.

La posibilidad de poder manipular la composición en ácidos grasos a través de la nutrición del animal puede resultar de alto impacto para aumentar el valor agregado de la leche y sus derivados, debido a los beneficios que se le atribuyen a los ácidos linoleicos conjugados denominados genéricamente "CLA" y que resultan predominantemente consumidos en los productos lácteos (75%).

La forma biológicamente activa de los CLA estaría representada por el isómero cis-9, trans-11 del ácido linoleico, compuesto que representa más del 90% de los CLA. Los CLA representan un compuesto intermedio en la hidrogenación ruminal del ácido linoleico (cis-9, cis-12 C18:2) a ácido esteárico (C18:0). Resultados recientes sugieren que las células mamarias y adiposas de los rumiantes serían capaces de sintetizar el cis-9,

trans-11 CLA a partir del trans-11 C18:1 y otros isómeros CLA por acción del enzima delta-9 desaturasa sobre los trans C18:1(INTA, 2001).

De acuerdo con INTA (2001) la concentración de CLA en los productos lácteos es a su vez una función directa de su concentración en la leche cruda la que puede variar ampliamente ante manipulaciones precisas de la dieta.

Según Jensen (2002) muchos son los factores que pueden establecer la diferencia en la formación de ácidos grasos trans en la grasa de la leche. Todos ellos se orientan al animal e incluyen la genética del animal (raza y selección), etapa de lactancia, enfermedades (mastitis principalmente), suplementos alimenticios (esto incluye granos y entradas de energía), tipo de pasto y efectos estacionales y regionales (Anexo 3).

El cuadro 2 permite observar cómo cambia la producción de isómeros trans en la grasa de la leche dependiendo de la dieta a la que se somete el ganado vacuno. Esto dependerá del tipo, calidad, etapa fisiológica del pasto y de los suplementos alimentarios a los que se somete el hato lechero.

Cuadro 2. Concentración de isómeros trans en la grasa de leche de vaca alimentada con pasto y ensilaje

Ácido Graso	Maíz y ensilaje (%)	Pastos (%)
14:1 7	0.53 ± 0.03	0.59 ± 0.06
14:1 9	1.23 ± 0.07	1.04 ± 0.08
16:1 7	0.22 ± 0.02	0.25 ± 0.03
16:1 9	2.09 ± 0.06	1.96 ± 0.11
17:1 10	0.25 ± 0.03	0.24 ± 0.02
18:1 7-10	19.21 ± 0.44	20.55 ± 0.72
18:1 11	0.59 ± 0.05	0.54 ± 0.05
18:1 12	0.26 ± 0.02	0.23 ± 0.04
18:1 13	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01
18:1 15	0.08 ± 0.01	0.11 ± 0.02
20:1 11	0.10 ± 0.02	0.12 ± 0.03

Fuente: Jensen (2002).

En el cuadro 3 se muestra cómo se puede dar variación en la concentración de los ácidos grasos en la leche bajo diferentes condiciones climáticas. Aunque el presentado se da en otras condiciones de manejo representa un buen ejemplo para demostrar el cambio. Se puede observar que existe un pequeño aumento en la cantidad de isómeros trans en la época seca (en este tipo de manejo). Esto generalmente se da por la implementación de concentrados para poder conseguir los rendimientos adecuados en el hato. Los cambios más drásticos en este estudio se dieron el isómero 18:1 trans 11, pues el mismo presentó una disminución de 70.94 % en la época lluviosa.

Cuadro 3. Perfil de ácidos grasos en leche cruda por estación climática en Alemania

Ácidos Grasos	Peso en verano (%)	Peso en invierno (%)
18:1 trans 4	0.02	0.01
trans 5	0.02	0.01
trans 6/7/8	0.26	0.21
trans 9	0.27	0.17
trans 10	0.29	0.25
trans 11	3.82	1.11
trans 12	0.33	0.27
trans 13/14	0.34	0.24
trans 15	0.51	0.38
trans 16	0.26	0.19
trans total	6.12	2.84
cis 9 (ácido oleico)	19.44	17.28
cis 11	0.55	0.53
cis 12	0.1	0.14
cis 13	0.06	0.08
cis 15	0.02	0.03
cis total	0.73	0.78
18:2	2.17	2.18
18:3 cis 9/12/15	0.61	0.42

Fuente: Jensen (2002).

En cuanto a la formación de ácido linoleico conjugado (en su mayoría cis-9 trans-11 18:2) el cuadro 4 permite observar algunos de los factores que afectan la concentración de los ácidos grasos denominados “CLA” en la grasa láctea.

Cuadro 4. Factores dentro de la dieta del ganado vacuno que afectan las concentraciones de los ácidos linoleicos conjugados (CLA)

Factores dentro de la dieta	**Contenido de "CLA"**
Grasas saturadas vs. Insaturadas	Incrementa con la adición de grasas insaturadas
Tipo de aceite en la planta	Incrementa con aceites altos en grasas insaturadas
Nivel de aceite en la planta	El incremento depende de la dosis
Sales de Ca en el aceite de la planta	Incremento
Semillas crudas	No afectan
Semillas procesadas	Incrementan
Maíz alto en aceite y ensilaje	Efecto mínimo
Productos con grasa animal	Efecto mínimo
Forraje: proporción de concentración	Efecto variable
Nivel de hidrato de carbono no estructural	Efecto mínimo
Alimentación restringida	Efecto variable
Aceite y harina de pescado	Incrementa
Algas marinas	Incrementan
Buffers dietéticos	Bajo efecto con suficientes fibras
Concentraciones de cobre	Bajo cobre incrementa
Pastos	Mayor incremento en forrajes conservados
Madures del pasto	Incremento con forraje menos maduro
Suplementos de "CLA"	Aumento depende de la dosis

Fuente: Jensen 2002.

Según Davis (1992), Villa- Godoy (1990), Coppack (1991), Palmquist (1993), Salem (1993) y Elliot (1993) citados por Osorio (1995), Las vacas de alta producción pueden movilizar gran cantidad de sus reservas para la síntesis de grasas en la leche (1.5 a 2 kg por día), lo cual puede totalizar hasta 55 a 65 kg. Debido a estas pérdidas muchas veces se presentan enfermedades y pérdidas de condición corporal en el ganado, provocando un desbalance energético que afectan la reproducción.

En torno a este problema se ha optado por soluciones alternativas. Una es aumentar el consumo de concentrado en esta etapa, la otra ha sido incluir grasas saponificadas en la ración mediante una suplementación estratégica adecuada y la utilización de diferentes fuentes de energía como algunas oleaginosas (soya, girasol) o maíz con mayor cantidad de aceite, etc.

2.2. ÁCIDOS LINOLEICOS CONJUGADOS (CLA)

Los ácidos linoleicos conjugados denominados “CLA” son ácidos grasos insaturados que contienen dos dobles enlaces contiguos. Estos dos dobles enlaces pueden presentar diferentes combinaciones: trans/trans, trans/cis, cis/trans o cis/cis (Jensen, 2002).

Según Bauman citado por Jensen (2002), los denominados “CLA” difieren de los demás ácidos grasos insaturados en que los dobles enlaces que poseen están ubicados en carbonos adyacentes como se puede observar en la figura 1.

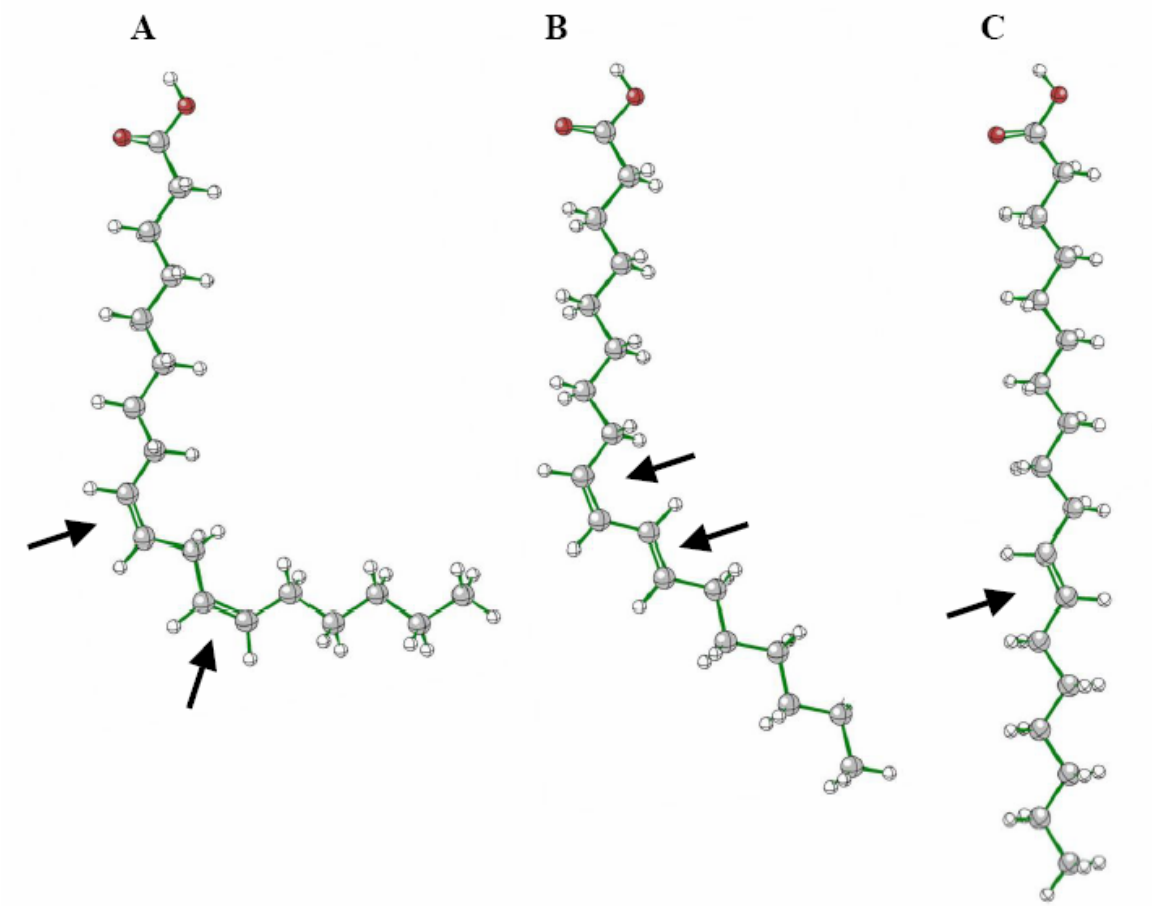


Figura 1. Estructura química del ácido linoleico conjugado cis-9, cis-12 18:2 (A), cis-9, trans-11 CLA (B) y trans-11 18:1 (C). Las flechas indican los dobles enlaces.

De acuerdo con Bauman citado por Jensen (2002), la fuente predominante de “CLA” en la dieta humana se da por la ingesta de productos alimenticios derivados de los rumiantes. Los productos lácteos proveen cerca del 75% y los productos cárnicos el restante 25%.

Los diferentes isómeros “CLA” tienen funciones específicas en la grasa de los rumiantes, pero el cis-9, trans-11 CLA se encuentra en mayor proporción y representa cerca del 75 -

90% del total. La segunda forma más común es el trans-7, cis-9 CLA y representa el 10% del total. Las otras combinaciones representan una pequeña proporción. (Jensen, 2002).

2.3. BIOHIDROGENACIÓN RUMINAL

La presencia de los diferentes isómeros de ácidos grasos trans y los linoleicos conjugados (CLA), son consecuencia de la biohidrogenación de la dieta de ácidos grasos poli-insaturados por medio de bacterias ruminales. La principal vía para la hidrogenación del ácido linoleico se muestra en la figura 2. Una completa biohidrogenación resulta en la producción de ácido esteárico ($C_{18:0}$). Hay que tomar en cuenta que el ácido vaccénico (trans-11, 18:1) "B"en la Figura 1 es un intermediario en la síntesis de este ácido graso insaturado, el mismo representa cerca del 60-70% de los ácidos grasos trans de la leche y la carne de rumiantes. (Bauman, 2004).

Según Mosley et al. (2002) citado por Jensen (2002), recientes estudios han revelado que los isómeros trans 18:1 son formados en el rumen a partir del ácido oleico (cis-9, 18:1).

De acuerdo con Griinari (2000) citado por Jensen (2002), el "CLA" más común cis-9, trans-11 18:2, mencionado anteriormente solamente es formado cuando el mismo es producido como un intermediario en la biohidrogenación del ácido linoleico. (Figura 2). Por eso se puede concluir que este es el origen principal de los isómeros ClA en la leche de vaca.

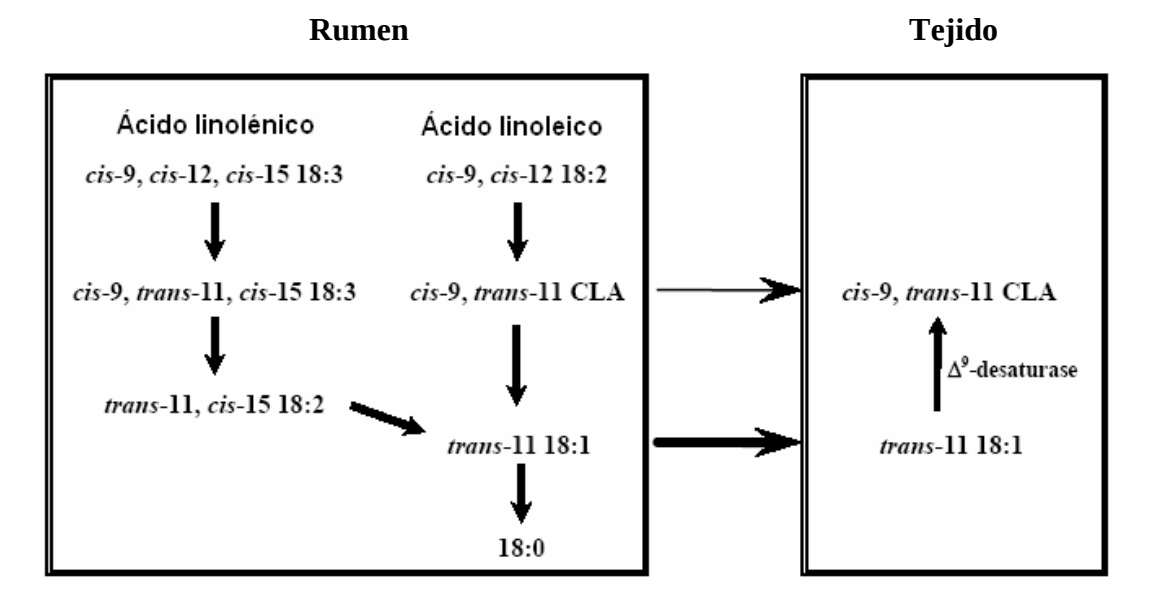


Figura 2. Vías dentro del rumen para la síntesis de cis-9, trans-11 CLA en la vaca lechera.

La fuente predominante del isómero CLA cis-9, trans-11 en la grasa láctea es la síntesis endógena que envuelve a la enzima delta-9 desaturasa con el ácido vacénico (trans-11, 18:1) utilizado como substrato (Figura 2).

2.4. IMPACTO DE LOS ISÓMEROS "CLA" EN LA SALUD HUMANA

Mucho se ha discutido acerca de los efectos benéficos que los isómeros "CLA", como consecuencia la Administración Federal de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA) ha excluido este ácido graso trans especial de su definición de "grasa trans" para los objetivos de etiquetaje alimenticio que entra en vigor en enero del 2006 para todos los productos que se deseen exportar hacia los Estados Unidos.

Según Jensen (2002), se han realizado varios estudios investigando la relación que existe entre las dietas constituidas por ácidos grasos trans y el colesterol, como resultado se constató que se debe reducir esta fuente de energía en la dieta como anteriormente se estipuló. A diferencia de los ácidos grasos trans, los isómeros "CLA" en recientes estudios han presentado diferentes resultados en modelos animales (con conejos, hámster y ratas). Los resultados indicaron que las dietas constituidas por isómeros "CLA" reducen el colesterol en el plasma y otras enfermedades asociados al mismo. De esta forma resultaría viable la implementación de suplementos de isómeros "CLA" que podrían ser muy bien utilizados en la alimentación del ganado, para obtener productos lácteos con efectos benéficos para la salud humana.

Otro aspecto importante de este tipo de ácidos grasos (CLA) es su estrecha relación con las propiedades anticarcinogénicas que poseen, pues ya se han comprobado estos efectos con diferentes tipos de cáncer en pruebas realizadas en Roswell Park Cancer Institute (Estados Unidos), reduciendo la incidencia de tumores malignos en modelos animales (ratas). Otros efectos benéficos atribuibles a este tipo de isómeros son la reducción de la diabetes, obesidad y formación de huesos, sin embargo hasta el momento es poco lo que se sabe de su función comparada con sus propiedades anticarcinogénicas por lo que actualmente esto representa uno de los procesos más investigados en este campo (AESA, 2004).

2.5. CUANTIFICACIÓN DE ISOMEROS TRANS EN LECHE

Según la "AOAC" (Association of Official Analytical Chemists, por sus siglas en inglés, 2005) los métodos más adecuados y aceptados por la comunidad científica para la cuantificación de isómeros trans de ácidos grasos son: la Cromatografía de Gases (GC, Gas Chromatography) y Espectroscopía Infrarroja.

De acuerdo a Nielsen S. (1994), el cromatógrafo de gases es muy utilizado debido a las características de resolución excepcionales del método y de la amplia variedad de detectores que proveen sensibilidad o selección en el análisis. La preparación de la muestra generalmente envuelve el aislamiento de los solutos de los alimentos el cual

puede ser logrado por destilación, cromatografía preparativa (incluyendo la extracción de la fase sólida) o extracción líquido – líquido. Algunos solutos pueden ser directamente analizados mientras que otros tienen que ser fraccionados previamente al análisis.

El cromatógrafo de gases consiste de una fuente de gas y reguladores (control de flujo y presión), puerto de inyección, columna, horno de la columna, detectores y sistema de procesamiento y almacenamiento de datos. Es necesario optimizar el flujo del gas y el perfil de temperaturas durante la separación. Las características de los componentes del cromatógrafo de gases y el entendimiento de la teoría básica de cromatografía son esenciales para balancear las propiedades de resolución, capacidad, velocidad y sensibilidad. A diferencia de los otros métodos cromatográficos, cromatógrafo de gases ha alcanzado los límites en términos de resolución y sensibilidad. Esto nos indica que este método no cambiará significativamente en el futuro, solamente mínimas innovaciones en asociadas al hardware o el software de la computadora. (Nielsen S., 1994).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. UBICACIÓN

Las muestras de leche cruda fueron tomadas en el área de recibo de la Planta de Lácteos de Zamorano y los análisis se llevaron a cabo en el Centro de Evaluación de Alimentos de Zamorano, ubicados en el valle del Yeguare, Departamento de Francisco Morazán, Honduras.

3.2. EQUIPOS, UTENSILIOS Y SUMINISTROS

3.2.1. Preparación de muestra

- Botes plásticos HDPE de 500 ml
- Muestras: 0.5 l. de leche cruda por proveedor
- Horno al vacío
- Vortex Genic 2™
- Cristalería de laboratorio

3.2.2. Método cromatográfico

- Columna DB – 23 60m, 0.25 mm de dm. interno, 0.25 µm de grosor de fase estacionaria, marca Supelco.
- Estándar de esteres metílicos de ácidos grasos RM5, RM6, ácido trans 9 elaídico y linoleico.
- Jeringa HP de 10 µl, graduación 1µl
- Detector de Ionización de llama Agilent
- Cromatógrafo de gases Agilent 6890 Series ®
- Sonicador Fisher Scientific FS14.
- Generador de Hidrogeno Agilent 5282-3483
- Tanque de nitrógeno
- Evaporador de nitrógeno N-Evap™ 111
- Nitrógeno conteniendo <10 mg O_2/kg
- Solvente orgánico: hexano al 95% grado HPLC

3.2.3. Programas de aplicación

- Microsoft Word® (Office 2000).
- Microsoft Excel® (Office 2000).
- Software ChemStation v 8.0.3
- SAS® 8.2 ("Statistical Analysis System")

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. Diseño Experimental

Se estableció un diseño de bloques completos al azar (BCA), donde los bloques estuvieron formados por los cuatro días de muestreo. Se evaluó la leche cruda de los siete proveedores que surten la planta de lácteos de Zamorano otorgándoles un código (Cuadro 5). En total se analizarón 28 unidades experimentales (Cuadro 6).

Cuadro 5. Codificación de proveedores

Proveedor	Código
AGAZA	1
R. Barahona	2
G. Barahona	3
Maier	4
Establo Zamorano	5
Casco	6
Montoya	7

Cuadro 6. Distribución de muestreos

Fecha	Bloque	Unidad Experimental	Tamaño de muestra (L)
19/07/05	1	1	0.5
		3	0.5
		2	0.5
		4	0.5
		7	0.5
		6	0.5
		5	0.5
21/07/05	2	3	0.5
		1	0.5
		2	0.5
		5	0.5
		6	0.5
		4	0.5
		7	0.5
27/07/05	3	7	0.5
		5	0.5
		3	0.5
		1	0.5
		2	0.5
		4	0.5
		6	0.5
29/07/05	4	1	0.5
		2	0.5
		4	0.5
		5	0.5
		6	0.5
		3	0.5
		7	0.5

3.3.2. Preparación de las muestras

Los muestreos se hicieron los días martes 19, jueves 21, martes 27 y jueves 29 de julio en el área de recibo de la Planta de Lácteos.

3.3.3. Preparación de muestra y de estándares cromatográficos

Para la preparación de la muestra de leche y del estándar se siguió el método oficial de la AOAC 996.06 para la cuantificación de grasa para cromatografía de gases con el objetivo

de hacer más volátiles los ácidos grasos de la leche por medio de su metilización. Los pasos se observan la figura 3.

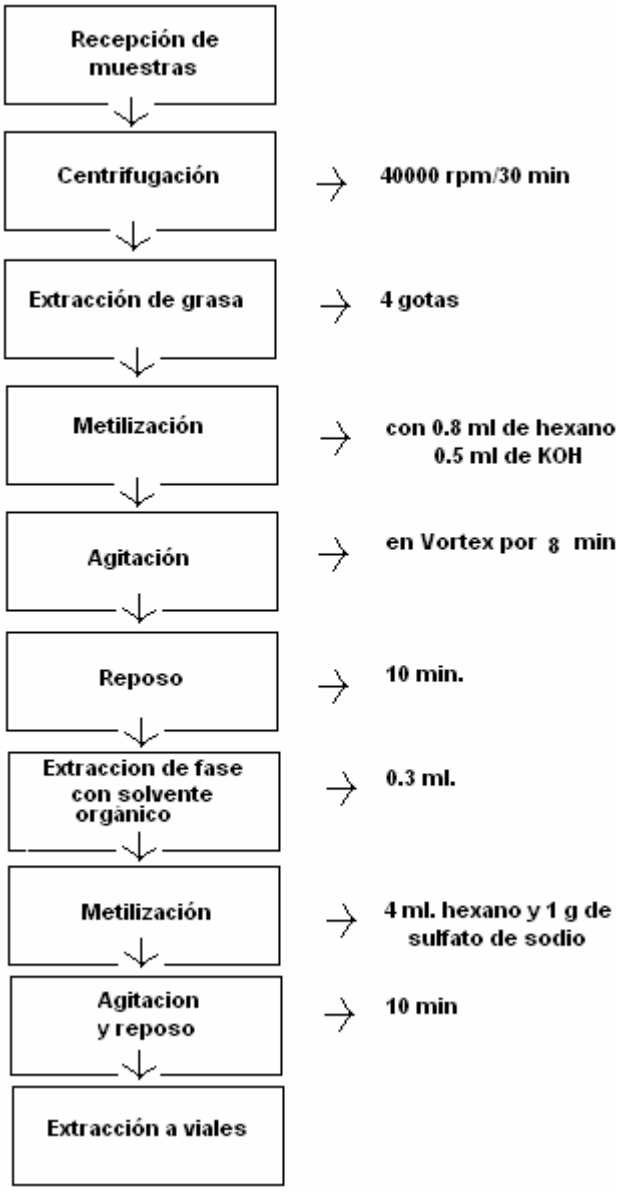


Figura 3. Método de transformación de ácidos grasos en ésteres metílicos.

Se utilizaron estándares conocidos (RM5, RM6, ácido linoleico y oleico) mezcla de cis y trans ésteres metílicos cerca de la composición conocida de la leche y los mismos fueron diluidos al 2% en hexano.

3.3.4. Análisis de muestras en el Cromatógrafo de Gases (GC)

Los ésteres metílicos de los estándares y los ácidos grasos provenientes de la leche cruda de cada proveedor fueron separados y cuantificados por cromatografía de gases para determinar el contenido total de isómeros trans que contienen (Anexos del 4 al 15).

Las condiciones del método fueron:

- Fase estacionaria: Columna DB – 23 60m, 0.25 mm, 0.25 µm , Supelco
- Fase móvil (Gas de acarreo) N_2
- Flujo: 8-10 cm/s
- Detector con llama de ionización a 210 ºC
- Inyector: 250 ºC (50 ºC arriba de la temperatura del ácido graso con mayor punto de volatilización).
- Temperatura de la columna: 40 ºC aumentando periódicamente hasta los 250 ºC durante 62 min.

3.3.5. Análisis estadístico

El estudio evaluó dos etapas: al análisis cuantitativo del perfil de ácidos grasos e isómeros cis y trans y el análisis comparativo de cada uno de los proveedores de leche cruda en la Planta de Lácteos.

Hipótesis nula (Ho): el porcentaje de isómeros de ácidos grasos trans en la leche cruda no varía entre los proveedores de leche.

Hipótesis alterna (Ha): el porcentaje de isómeros de ácidos grasos trans en la leche cruda varía en por lo menos dos de los proveedores de leche.

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA, por sus siglas en inglés), para evaluar si hay o no diferencias en el porcentaje de isómeros de ácidos grasos trans. La separación de medias se realizó por la prueba Tukey, con 5% de significancia ($P<0.05$), para obtener una confiabilidad de los datos del 95%. El análisis estadístico se realizó por medio del programa estadístico "S.A.S.®" (Statistical Analysis System).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PROVEEDORES DE LA PLANTA DE LÁCTEOS DE ZAMORANO

La Planta de Lácteos de Zamorano cuenta con siete proveedores de leche cruda, cada uno de ellos cuenta con un manejo diferente brindando como resultado características que difieren en cuanto al contenido de grasas y el tipo de las mismas. En el cuadro 7 se observa detalladamente la cantidad de leche que cada productor provee y la mayoría de los factores que pueden intervenir en el perfil de AG, a excepción de los factores climáticos.

Cuadro 7. Condiciones de manejo y cantidad de leche recibida por productor en la planta de lácteos

Productor	Raza	Pasto (nombre común)	Concentrado	Leche recibida (L/semana)
Julio Maier	Holstein	Tanzania	Maxi Leche de Alcon	946
Gustavo Barahona	Jersey Holstein	Tanzania	Maxi Leche de Alcon	2768
Rene Barahona	Holstein/Braman, Pardo Suizo	Jaragua	Vaca Lechera EAP	4800
Montoya	Holstein, Pardo Suizo y Jersey	Estrella	Vaca Lechera EAP	3200
Casco	Holstein, Jersey	Estrella	AP18 de Alcon	2514
Establo Zamorano	Holstein, Jersey, Pardo Suizo	Tobiata	Vaca lechera EAP	22974
AGAZA	Holstein, Pardo Suizo Holstein/Braman, Jersey Holstein/Pardo Suizo Pardo Suizo/Braman	King Grass, Estrella Jaragua, Tanzania Tobiata y otros	Vaca lechera EAP, Maxi Leche de Alcon y AP18 de Alcon	3000

Utilizando los registros de la Planta de Lácteos en Zamorano, se calculó el porcentaje de grasa promedio en diez días de recibo durante el mes de julio fecha en que se realizó el estudio. Los resultados en el cuadro 8 muestran la concentración de grasa en la leche de cada uno de los hatos por proveedor. Gustavo Barahona y Montoya vendieron la leche con mayor contenido de grasa mientras René Barahona y Casco vendieron la leche con menos grasa.

Cuadro 8. Porcentaje de grasa en la leche por productor

Porcentaje de grasa en la leche por productor	
Proveedor	**Porcentaje de grasa**
Gustavo Barahona	4.2
Montoya	4.2
AGAZA	4.1
Julio Maier	4.0
Establo Zamorano	3.7
Rene Barahona	3.6
Casco	3.6

Fuente: Registro Planta de Lácteos Zamorano

4.2. COMPARACIÓN DE ACIDOS GRASOS ENTRE PRODUCTORES.

El perfil de ácidos grasos de la leche cruda de cada proveedor de la Planta de Lácteos de Zamorano se puede observar en el cuadro 9. Las variaciones en el perfil de ácidos grasos de la leche entre proveedores fueron directamente influenciadas por las condiciones de manejo particulares en cada hato, principalmente por el pasto y el concentrado. Para comparar el impacto de los mismos se realizaron contrastes ortogonales ($Pr < 0.05$) y se encontró influencia directa del Concentrado Zamorano ($Pr < 0.01$) y en del pasto tanzania ($Pr < 0.01$) (Anexo 16). Esto se puede asociar con el contenido de grasas insaturadas dentro de la ración (aceite de palma y harina de camarón) y el pasto tanzania que pudo haber sido consumido por las vacas en una etapa inmadura.

En el cuadro 10 se puede observar que los perfiles de ácidos grasos de la leche por productor no presentan diferencias significativas en los ácidos grasos de cadena corta (C_4 a C_8) que son los encargados de dar el sabor y aroma. Las diferencias más notorias se observaron en los acidos grasos de cadena larga (C_{10} a C_{18} cis y trans).

Por último en el cuadro 11 se observa la diferencia existente entre los ácidos grasos trans de la leche de los proveedores de la Plata de Lácteos en Zamorano. Los dos tipos de trans encontrados en el estudio son del tipo “CLA” (cis-9 trans 11 $C_{18:2}$) en el hato lechero de Zamorano exclusivamente o precursores del mismo (trans 11 $C_{18:1}$) por lo que de una u otra forma poseen la misma calidad benéfica anticarcinogénica atribuida a este tipo de ácidos grasos trans, pues si estos no fueron convertidos en el rumen a la forma cis-9 trans

11 $C_{18:2}$, estos podrían hacerlo en el cuerpo humano, donde está comprobado existen los mecanismos necesarios para desaturarla por medio de la enzima delta-9 desaturasa.
La leche que posee mayor potencial benéfico por su capacidad de generar "CLA" es la leche de Montoya que se diferenció notablemente del resto por el contenido de ácido trans 11 $C_{18:1}$.

Cuadro 9. Contenido de grasa saturada e insaturada en la leche cruda por proveedor de la planta de lácteos de Zamorano

Comparación del tipo de acidos grasos por productor			
Proveedor	**Acidos grasos saturados (g/100g)***	**Ácidos grasos insaturados (g/100g)***	
		Cis	**Trans**
Establo Zamorano	68,24 ^{b}	29,51 ^{a}	2,24 ^{bc}
Rene Barahona	72,06 ^{ab}	23,74 ^{ab}	4,19 ^{ab}
Gustavo Barahona	71,84 ^{ab}	26,80 ^{ab}	0,51 ^{c}
Julio Maier	69,33 ^{ab}	29,30 ^{a}	1,37 ^{bc}
Montoya	73,02 ^{ab}	21,31 ^{b}	5,67 ^{a}
Casco	71,09 ^{ab}	27,43 ^{a}	0,85 ^{c}
AGAZA	73,48 ^{a}	24,76 ^{ab}	1,46 ^{bc}
HDS (P< 0.05)	**5.02**	**5.83**	**3.27**

*Valores con diferente letra en la misma columna son estadísticamente diferentes.

Cuadro 10. Perfil de ácidos grasos de leche cruda por proveedor en la Planta de Lácteos de Zamorano (g/100g)

Proveedor	Butírico	Caproico	Caprílico	Cáprico	Láurico	Mirístico	Palmítico	Margárico	Oleico	Oleico	CLA
	C4*	C6*	C8*	C10*	C12*	C14*	C16*	C17*	tr 11 18:1*	C18:1*	c 9, tr 11 18:2*
Establo Zamorano	0.99 [a]	0.83 [a]	0.59 [a]	1.78 [b]	3.40 [bc]	9.57 [c]	32.66 [c]	18.41 [ab]	0 [c]	29.52 [a]	2.24 [a]
Rene Barahona	0.65 [a]	1.01 [a]	0.81 [a]	2.11 [ab]	3.33 [bc]	12.40 [a]	33.51 [abc]	18.25 [ab]	4.19 [ab]	23.74 [bc]	0 [b]
Gustavo Barahona	1.09 [a]	1.10 [a]	0.80 [a]	2.42 [a]	3.19 [c]	12.06 [ab]	34.62 [ab]	16.56 [b]	0.51 [c]	26.80 [ab]	0 [b]
Julio Maier	0.98 [a]	1.02 [a]	0.78 [a]	1.95 [ab]	2.85 [c]	10.75 [bc]	33.40 [bc]	17.60 [b]	1.37 [c]	29.30 [a]	0 [b]
Montoya	0.51 [a]	0.92 [a]	0.74 [a]	1.96 [ab]	3.39 [bc]	12.12 [ab]	33.25 [bc]	20.13 [a]	5.67 [a]	21.31 [c]	0 [b]
Casco	0.87 [a]	0.78 [a]	0.59 [a]	1.84 [ab]	4.50 [a]	11.54 [ab]	33.78 [abc]	17.19 [b]	0.85 [c]	27.43 [ab]	0 [b]
AGAZA	0.89 [a]	1.05 [a]	0.85 [a]	2.19 [ab]	4.19 [ab]	12.86 [a]	35.36 [a]	16.09 [b]	1.46 [bc]	24.76 [bc]	0 [b]
HSD (P<0.05)	**1.39**	**0.98**	**0.67**	**0.59**	**0.98**	**1.44**	**1.92**	**2.51**	**2.80**	**3.81**	**1.32**

*Valores con diferente letra en la misma columna son estadísticamente diferentes.

Cuadro 11. Concentración de ácidos grasos trans de leche cruda por proveedor en Planta de Lácteos de Zamorano

Comparación de ácidos grasos trans por productor (g/100g)		
Proveedor	**Ácido oleico**	**Ácido linoleico conjugado**
	trans 11 18:1*	**Cis 9, trans 11 18:2***
Establo Zamorano	0 [c]	2.24 [a]
Rene Barahona	4.19 [ab]	0 [b]
Gustavo Barahona	0.51 [c]	0 [b]
Julio Maier	1.37 [c]	0 [b]
Montoya	5.67 [a]	0 [b]
Casco	0.85 [c]	0 [b]
AGAZA	1.46 [bc]	0 [b]
HDS (P< 0.05)	**2.80**	**1.32**

*Valores con diferente letra en la misma columna son estadísticamente diferentes.

5. CONCLUSIONES

- Se identificó ácidos grasos trans en la leche de todos los proveedores de la Planta de Lácteos en Zamorano.

- Los ácidos grasos trans identificados fueron los isómeros trans 11 18:1 y el cis 9 trans trans 11 18:2.

- El perfil de ácidos grasos de la leche de cada uno de los proveedores se encontró entre los rangos normales.

- Las razas no tuvieron influencia sobre la concentración de AGT.

.

.

.

6. RECOMENDACIONES

- Comparar la influencia del temperamento lechero, tipo de concentrado y enfermedades en la producción de “CLA”.

- Evaluar cambios en el perfil de AGT en la leche del verano al invierno.

- Utilizar fuentes de grasas o aceites poli-insaturados, suplementos alimenticios de ácidos linoleicos conjugados que permitan hacer eficiente la producción de ácidos grasos “CLA” en el hato lechero Zamorano.

- Evaluar la influencia de la raza, el pasto y concentrados en la producción de ácidos grasos trans.

7. BIBLIOGRAFÍA

AOAC. 1995. Methods of determination of Total Trans Fatty Acid Isomers in Margarines. Official Methods of Analytical Chemists. 15 ed. V. USA.

AESA(2004). Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on Trans fatty acids in foods and the effect on human health of the consumption of trans fatty acids (en linea) .Consultado el 12 de julio de 2005. Disponible en: www.efsa.eu.int

Dadán M., 2004. Los ácidos grasos trans importante aporte en la alimentación cotidiana (en línea). Consultado el 13 de julio de 2005. Disponible en: http://www.alimentacion-sana.com.ar

INTA. 2001. Modificación nutricional de la composición de los ácidos grasos de la leche en sistemas pastoriles ante la suplementación de lípidos insaturados.

Jensen, R. 2002. The Composition of Bovine Milk Lipids. Department of Nutritional Sciences. University of Connecticut, Storrs, CT 06269-4017. Journal of Dairy Science 85:295–350.

Nielsen, S. 1994. Gas Chromatografy. Introduction of chemical analysis of foods. Edit. Chapman & Hall. 530 Pág.

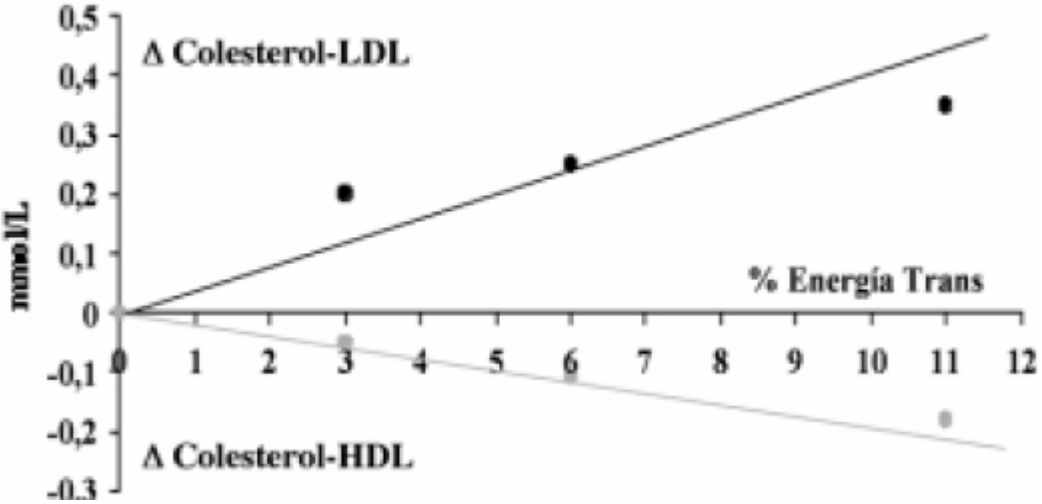
Nutrinfo, 2003. Definición de ácidos grasos trans (en línea). Consultado el 17 de mayo de 2005. Disponible en: http://www.nutrinfo.com.ar/pagina/info/trans.html

Osorio, L. F. 1995.Uso de maíz alto en aceite en la alimentación de vacas. Tesis Ing. Agr. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 15 p.

Zamora, A. 2005. Why are Trans Fats Bad? (en línea). Consultado el 17 de mayo de 2005. Disponible en: http://www.scientificpsychic.com/fitness/fattyacids2.html

8. ANEXOS

Anexo 1**.** Variación de las lipoproteínas plasmáticas según la ingesta de ácidos trans.



Anexo 2. Contenido de ácidos grasos trans, en gramos, de los alimentos

Fuente	*Grasa total*	*A.G. trans*
Grasa vegetal		
Pan comercial	4,0	0,3
Alimentos fritos	3,9	0,8
Margarinas tubo	1,7	0,5
Margarinas untables	1,2	0,2
Galletas	1,2	0,2
Crackers	0,5	0,1
Shortenings	0,4	0,1
Grasa animal		
Leche	5,5	0,2
Carne de vacuno	3,4	0,1
Mantequilla	1,3	0,1

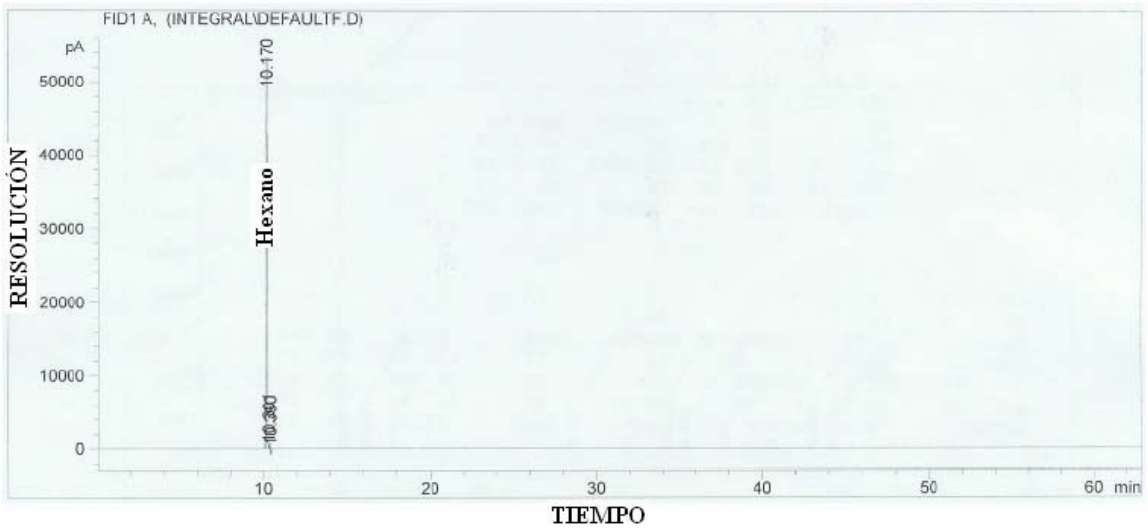
Fuente: Spaoyex 2005

Anexo 3. Contenido de ácidos grasos trans en la leche en diferentes países

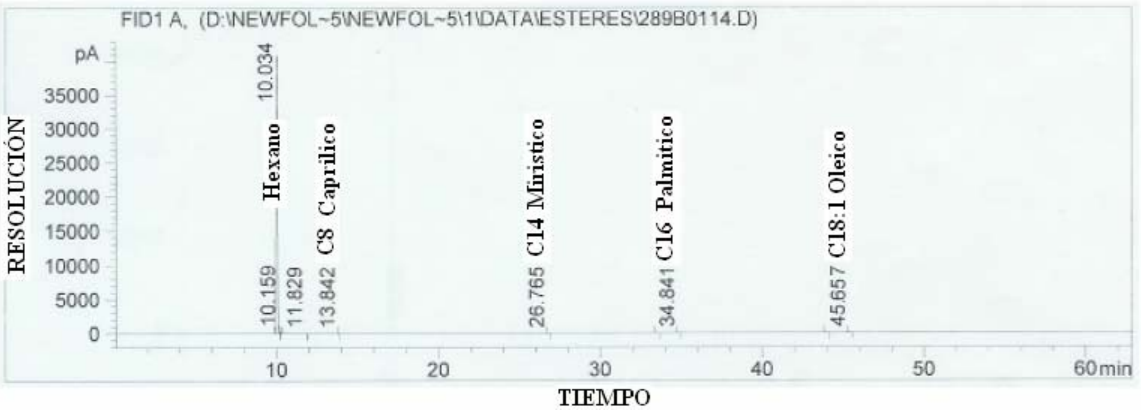
Media (% peso)	Mínimo	Máximo	Isómero Trans	País
0.03			C 15:1	Dinamarca
0.18			C16:1	Dinamarca
0.08	0.04	0.13	C16:1	Francia
0.13	0.1	0.16	C16:1	Francia
0.13	0.05	0.25	C16:1	Alemania
5.53	4.52	7.31	C18:1	Nueva Zelanda
2.7			C18:1	Suecia
3.8	2.46	5.1	C18:1	Francia
3.33	1.75	5.2	C18:1	Austria
3.62	1.29	6.75	C18:1	Alemania
3.83	1.91	6.34	C18:1	Alemania
4.24	3.19	5.91	C18:1	Estados Unidos
2.65	1.29	4.21	C18:1	Alemania
3.8	2.71	4.94	C18:1	Alemania
5.08	3.28	6.75	C18:1	Alemania
4.35	2.18	5.18	C18:1	Alemania
0.5	0.1	2.2	C18:2	Alemania
0.53	0.3	0.8	C18:2	Alemania
0.99	0.56	1.58	C18:2	Alemania
0.46	0.11	0.95	C18:2	Alemania
0.66	0.4	1.14	C18:2	Alemania
0.87	0.54	1.41	C18:2	Alemania
3.7	1.29	7.31	C18:1	Europa
1.9			C18:1	Estados Unidos
3.1			C18:2	Estados Unidos

Fuente: Jensen 2002

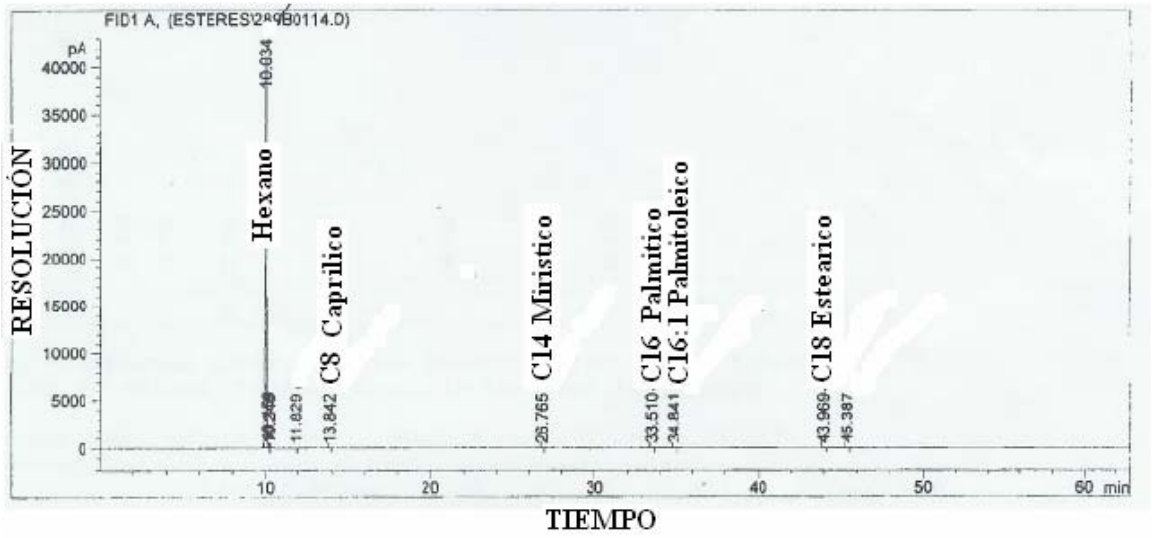
Anexo 4**.** Cromatograma del estándar de Hexano



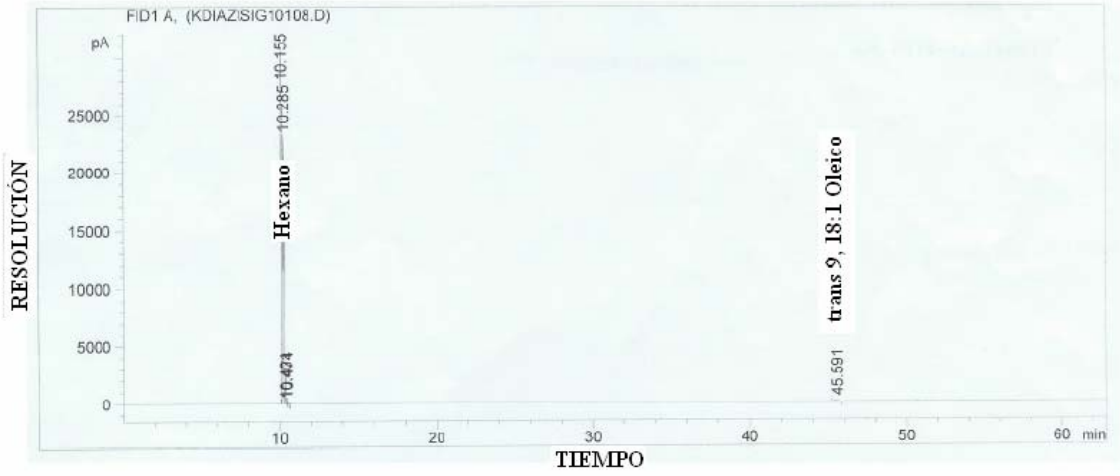
Anexo 5**.** Cromatograma estándar RM5



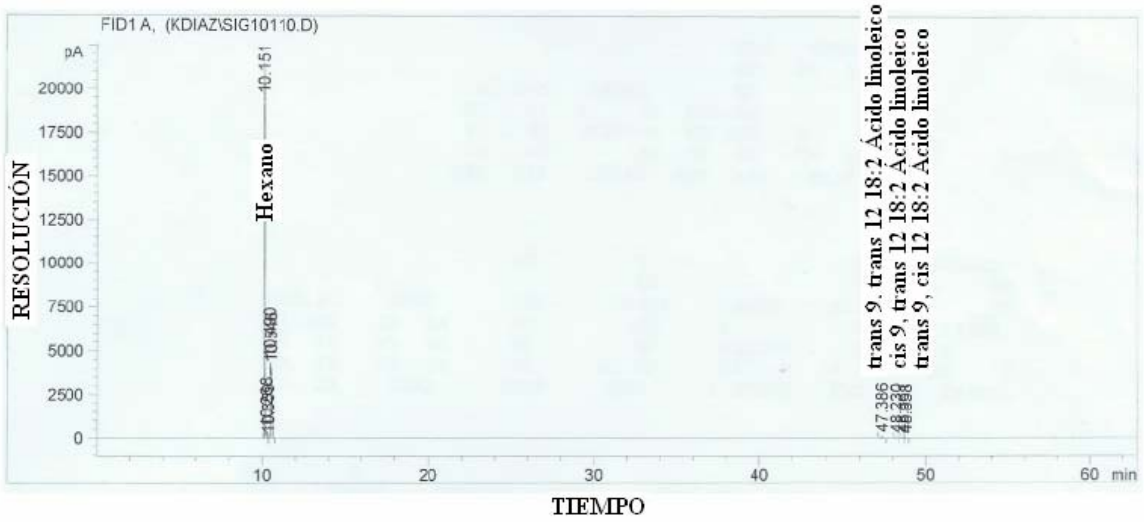
Anexo 6**.** Cromatograma estándar RM6



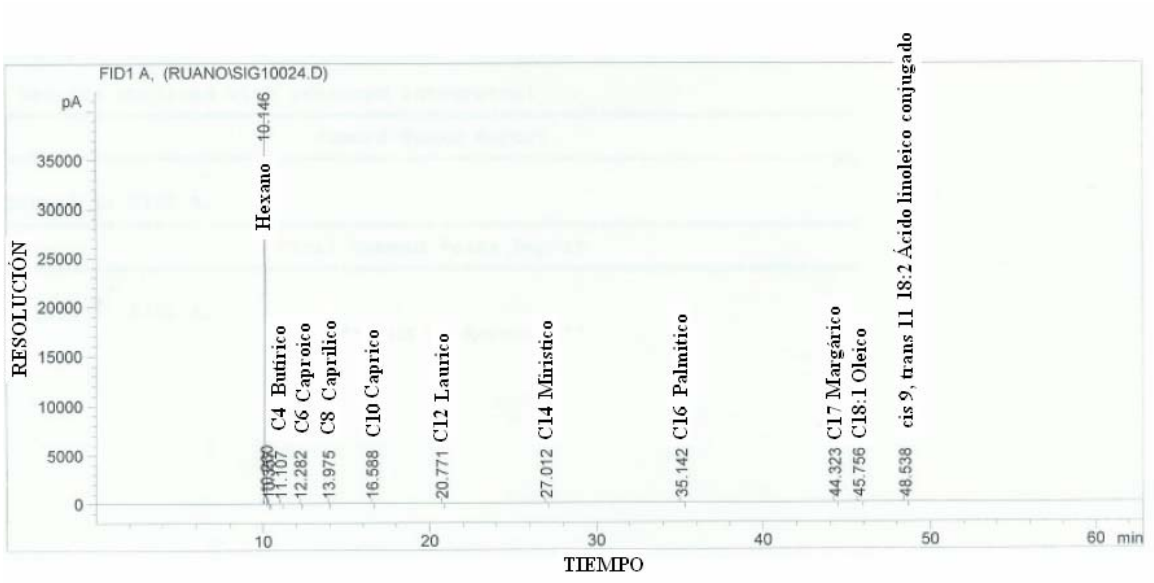
Anexo 7. Cromatograma estándar ácido oleico trans 9, C18:1



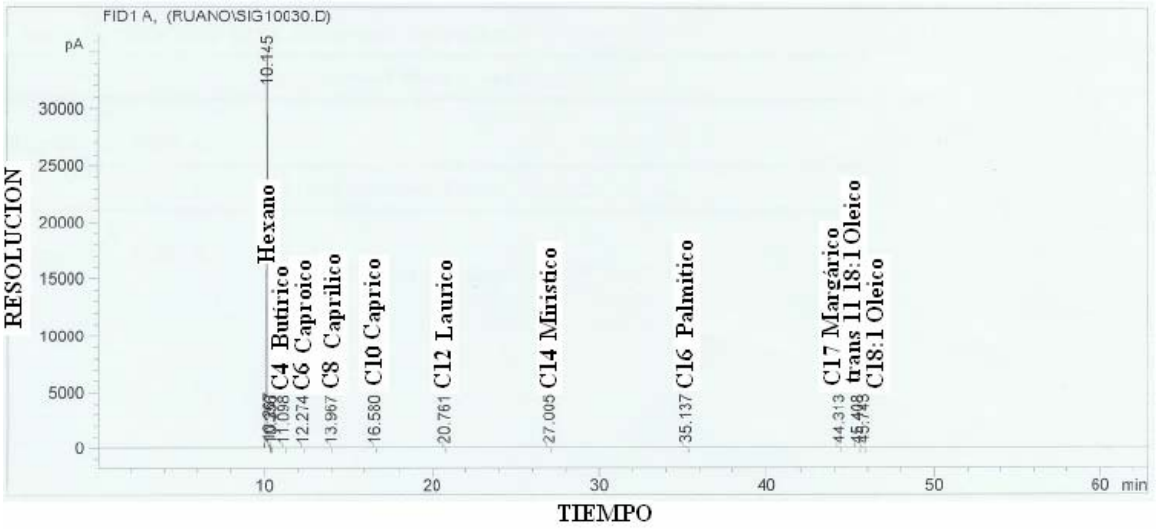
Anexo 8**.** Cromatograma estándar ácido linoleico



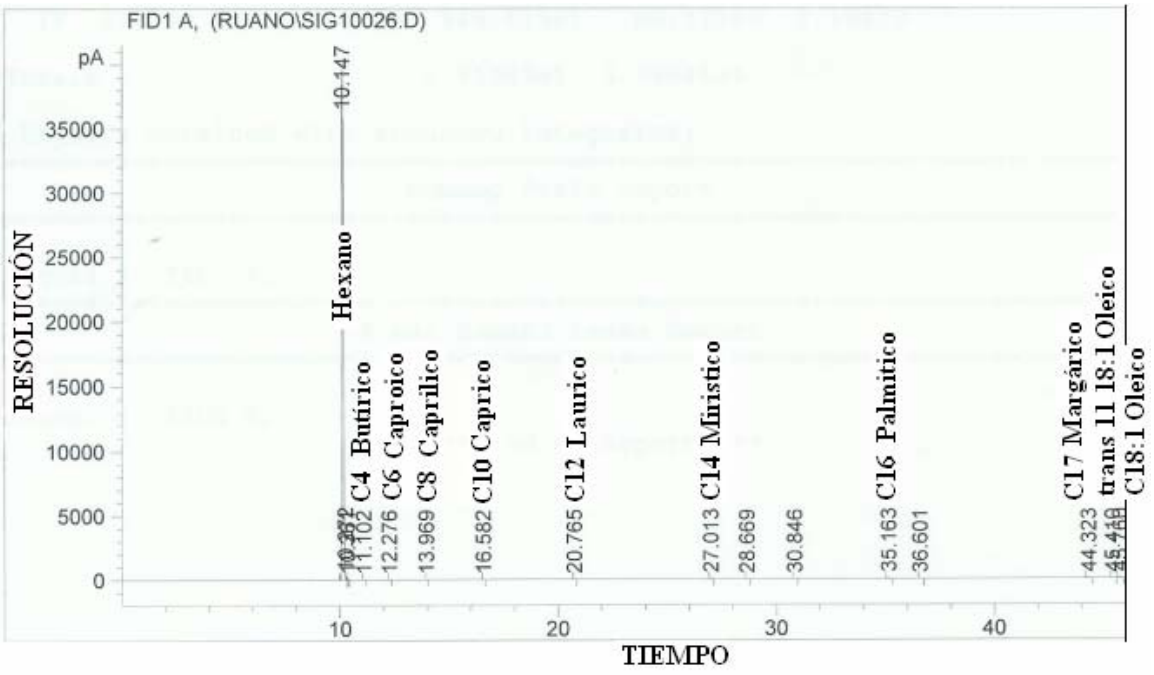
Anexo 9. Cromatograma de leche del Establo Zamorano



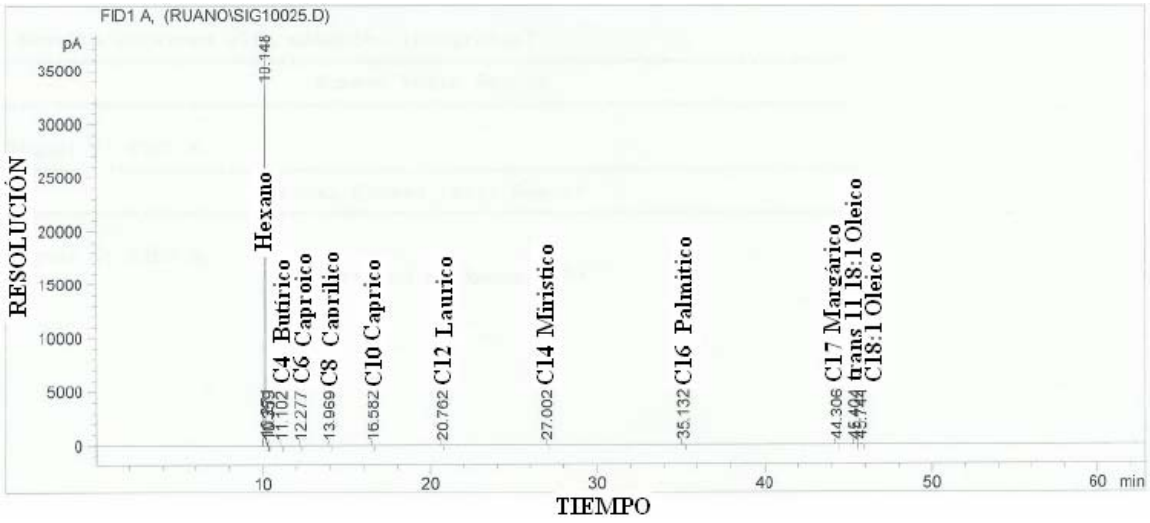
Anexo 10**.** Cromatograma de la leche de René Barahona



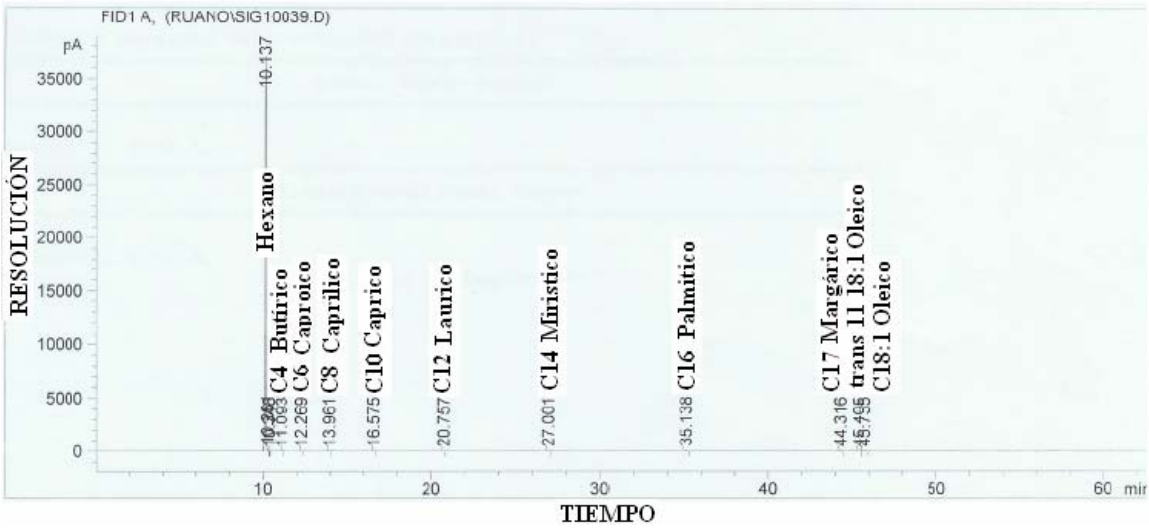
Anexo 11. Cromatograma de la leche de Gustavo Barahona



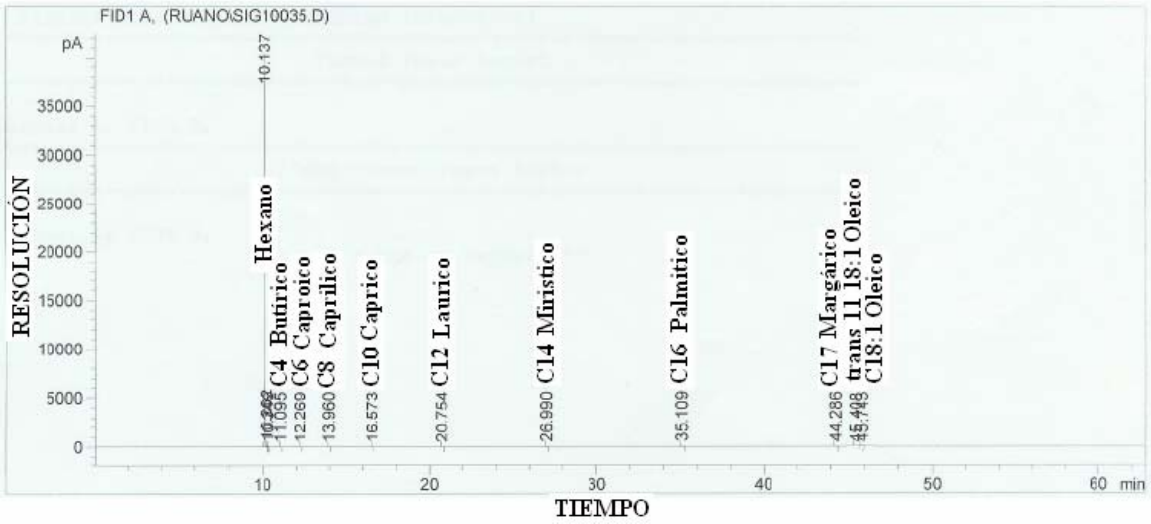
Anexo 12**.** Cromatograma de la leche de Julio Maier



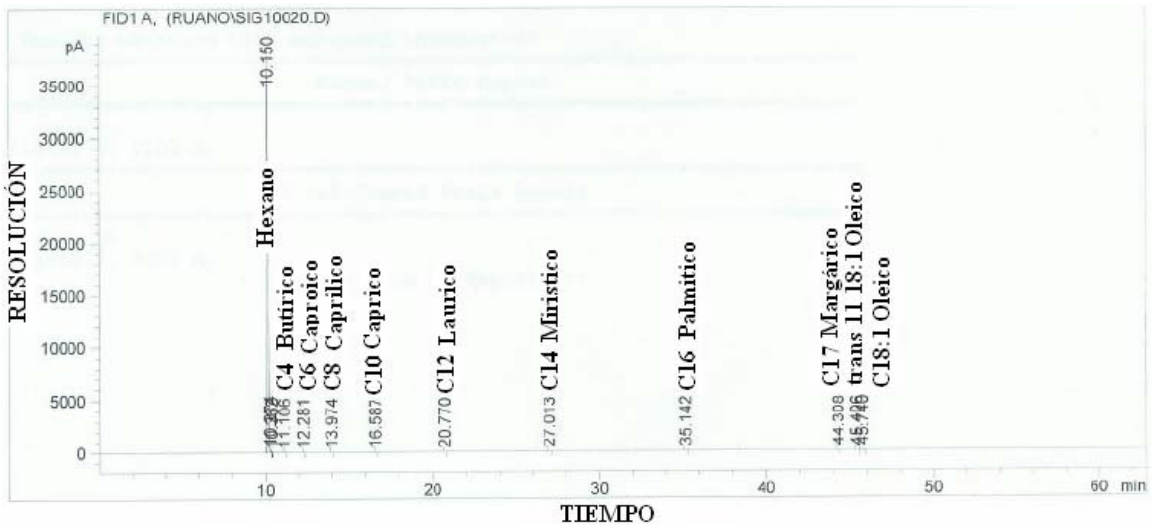
Anexo 13**.** Cromatograma de la leche de Montoya



Anexo 14**.** Cromatograma de la leche de Casco



Anexo 15**.** Cromatograma de la leche de AGAZA



Anexo 16**.** Contrastes ortogonales

Contraste	**Diferencia**	**Significancia (P< 0.05)**
Concentrado EAP	+3.12	0.0001
AP18 (Alcon)	- 1.94	0.1088
Maxi Leche (Alcon)	- 1.29	0.1026
Tanzania	- 2.29	0.0126
Jaragua	+ 2.07	0.0878
Estrella	- 6.92	0.2252
Tobiata	- 0.27	0.8264
Jersey	-1.23	0.1015
Pardo Suizo	-1.32	0.1037