

RELACIÓN DE LA RACIÓN CONSUMIDA CON LOS ÁCIDOS GRASOS IMPARES Y RAMIFICADOS DE LA LECHE EN CABRAS

Relationship between the diet fed to goats and the odd and branched chain fatty acid contents in their milk

Ana Cabello-Salinas¹, Pilar Gómez-Cortés², Nieves Núñez-Sánchez¹ y Andrés Martínez-Marín^{1*}

¹Departamento de Producción Animal, Universidad de Córdoba, Ctra. Madrid-Cádiz km 396, 14071 Córdoba, España. ²Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CSIC-UAM), Universidad Autónoma de Madrid, Nicolás Cabrera 9, 28049 Madrid, España. *Autor para correspondencia: pa1martm@uco.es

RESUMEN

Los contenidos en ácidos grasos impares y ramificados (AGIR) determinados mediante cromatografía gaseosa en 94 muestras de grasa láctea (GL) se utilizaron para identificar el tipo de ración consumida por cabras mediante análisis discriminante lineal. Las dietas consistieron en un control (CON), sin aceite añadido, y la misma dieta enriquecida con aceite de girasol alto oleico (GAO), aceite de girasol normal (GN) o aceite de lino (LIN). De un total de 21 variables, cuatro fueron seleccionadas como predictores válidos (C7:0, metiltetradecanoato, C15:0 iso y la suma de C17:0 + C17:1 cis-9). La prueba de Wilks fue altamente significativa ($P < 0,001$), indicando que el análisis discriminante era aplicable a los datos del presente estudio. La primera función discriminante canónica explicó el 90,9% de la varianza observada entre los grupos. Las distancias de Mahalanobis entre el tratamiento CON y los tratamientos con aceite fueron similares (5,1 a 6,6; $P < 0,001$). Entre los tratamientos con aceite, la mayor distancia se observó entre los tratamientos GN y GAO (0,95; $P < 0,05$).

No hubo diferencias significativas en las distancias del tratamiento LIN con los tratamientos GAO (0,27; $P = 0,58$) y GN (0,48; $P = 0,28$). De acuerdo con los valores de los centroides, la función 1 discriminó el tratamiento CON de los tratamientos con aceite. Los coeficientes estandarizados indicaron que las variables con mayor capacidad discriminante en la función 1 fueron C7:0 en sentido negativo y metiltetradecanoato en sentido positivo. La función 2 discriminó débilmente al tratamiento GN del tratamiento GAO. La mayor capacidad discriminante en esta función se debió a C15:0 iso en sentido positivo y a la suma C17:0+C17:1 cis-9 en sentido negativo. La tasa de acierto de las funciones discriminantes de Fisher fue muy superior en las observaciones del tratamiento CON (82,1%) que en los tratamientos con aceite (31,8; 50,0 y 40,9% en los tratamientos GAO, GN y LIN, respectivamente). Las observaciones del tratamiento GAO se confundieron en gran medida con las del tratamiento LIN, y las de este tratamiento se confundieron principalmente con las del tratamiento GN. Los resultados obtenidos indicaron que los AGIR de la grasa láctea GL no sirven para identificar el tipo de aceite vegetal incluido en la ración de cabras, pero permiten diferenciar la grasa láctea GL de las raciones con y sin aceite añadido mediante análisis discriminante lineal.

Palabras clave: Grasa láctea; aceite vegetal; análisis discriminante lineal.

ABSTRACT

The contents of odd and branched chain fatty acids (OBCFA) in 94 milk fat (MF) samples, determined by gas chromatography, were used to identify the diet fed to dairy goats by linear discriminant analysis. The diets consisted on a control without added oil (CON), and the same diet supplemented with high oleic sunflower oil (OSO), regular sunflower oil (RSO) or linseed oil (LO). Four variables were selected as valid predictors (C7:0, methyltetradecanoate, C15:0 iso and the sum of C17:0 plus C17:1 cis-9) out of 21 OBCFA identified in milk fat. Wilk's test was highly significant ($P < 0.001$), which indicated that the data were appropriate for a linear discriminant analysis. The first discriminant function accounted for 90.9% of the variance between groups. Mahalanobis squared distances between the CON treatment and the other three oil treatments were similar (5.1 to 6.6, $P < 0.001$). Within the oil supplemented rations, the RSO and OSO treatments showed the highest distance (0.95, $P < 0.05$). The distances between the LIN treatment and the OSO and RSO treatments were not significant (0.27, $P = 0.58$, and 0.48, $P = 0.28$, respectively). According to the centroids, function 1 discriminated the CON treatment from the oil treatments. Methyltetradecanoate and C7:0 presented the greatest discriminant ability in this function in positive and negative directions, respectively. Function 2 discriminated the RSO and OSO treatments in a weakened mode, with C15:0 iso and C17:0+C17:1 cis-9 showing the greatest discriminating ability in positive and negative directions, respectively. The error rate count of the Fisher's functions was lower in the CON treatment (82.1% of observations were classified correctly) than in the oil treatments (31.8, 50.0 and 40.9% of observations were classified correctly in the OSO, RSO and LIN treatments, respectively). Individual observations in the OSO treatment were mainly misclassified in the LIN treatment, whereas several individual observations of the latter were misclassified in the RSO treatment. Obtained results indicate that the OBCFA content in milk fat MF does not predict the type of plant oil fed to goats, but allows an accurate classification of the milk fat MF from goats fed a diet with or without added oil by linear discriminant analysis.

Key words: Milk fat; plant oils; linear discriminant analysis.

INTRODUCCIÓN

Los ácidos grasos impares y ramificados (AGIR) son componentes singulares de la grasa de la carne y la leche de los rumiantes, siendo estos alimentos los únicos aportes importantes de AGIR a la dieta humana. Los AGIR de cadena media y larga son sintetizados por los microorganismos ruminales a partir de ácidos grasos volátiles (AGV) producidos durante la degradación de los carbohidratos y los aminoácidos presentes en la ración suministrada a los animales [8]. Su bajo punto de fusión hace que sean incorporados preferentemente en las membranas celulares microbianas para contribuir al mantenimiento de su fluidez [20]. La mayoría de los AGIR microbianos absorbidos en el intestino delgado se incorporan a la grasa láctea (GL) sin modificaciones, pero en algunos casos puede ocurrir su Δ -9 desaturación y elongación [4, 22]. Adicionalmente, los ácidos grasos impares de cadena más corta (5 a 11 átomos de carbono) y los ácidos grasos ramificados con grupos metilo no terminales pueden ser sintetizados por la glándula mamaria, utilizando como sustratos el ácido propiónico y su derivado el ácido metilmalónico, respectivamente, en lugar de acetil-CoA [5, 17].

La cuantificación de los AGIR de la GL ha despertado gran interés en los últimos años. Debido a su origen y las relaciones encontradas con la dieta y la población microbiana ruminal, se considera que los AGIR pueden ser utilizados como indicadores biológicos de la función ruminal [4, 21]. Otro motivo de interés son los potenciales efectos inhibitorios de algunos de ellos sobre células tumorales [3, 23] y la relación de su consumo con el menor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares [10]. Adicionalmente, los ácidos grasos con grupos metilo no terminales se consideran exclusivos de la leche de cabra (*Capra hircus*) y oveja (*Ovis aries*), ya que no aparecen en la leche de vaca (*Bos taurus*) [7, 15], y son relevantes por las propiedades organolépticas que confieren a los productos lácteos [24].

Es bien sabido que la adición de suplementos lipídicos a la ración de las hembras rumiantes puede modificar el perfil de ácidos grasos de la GL por diversos mecanismos a nivel ruminal y mamario [1]. Recientes estudios han reportado los efectos de la adición de aceites vegetales ricos en ácidos grasos insaturados a la dieta sobre los ácidos grasos de la leche caprina, incluyendo diversos AGIR [2, 11, 18, 19]. A pesar de lo anterior, no se han encontrado trabajos publicados en los que se hayan utilizado los contenidos de AGIR de la leche como indicadores de la adición de aceites vegetales a la dieta de cabras.

El análisis discriminante es un técnica estadística multivariada que puede utilizarse para construir un modelo predictivo de discriminación de grupos a partir de predictores observados y clasificar las observaciones en uno de los grupos identificados. El análisis discriminante lineal se ha utilizado con éxito para diferenciar la ración consumida por los animales a partir de determinados ácidos grasos identificados y cuantificados en la GL de vaca y cabra mediante cromatografía gaseosa [6, 12].

El objetivo del presente trabajo fue utilizar el análisis discriminante lineal para determinar la utilidad específica de los AGIR cuantificados en la GL como predictores de la inclusión de aceites vegetales de diferente grado de insaturación en la dieta suministrada a cabras.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente trabajo se utilizaron los datos de composición de 94 muestras individuales de GL obtenidas en una serie de cinco experimentos que investigaron los cambios de los ácidos grasos de la leche en respuesta a la inclusión de aceites vegetales en la dieta de cabras [11, 13, 14]. Los procedimientos experimentales cumplieron con la normativa española vigente sobre protección de animales de experimentación. En todos los experimentos se utilizó una dieta basal común con heno de alfalfa (*Medicago sativa*) y un concentrado granulado, que sirvió de control, a la que se añadieron 48 gramos (g) / día (d) de aceite de girasol (*Helianthus annuus*), alto oleico o normal, o aceite de lino (*Linum usitatissimum*), de acuerdo con los tratamientos del diseño experimental (TABLA I). Todos los experimentos se llevaron a cabo en el Centro Usuario de Animales de Experimentación del Departamento de Producción Animal de la Universidad de Córdoba. Se utilizaron cabras de raza Malagueña en segunda lactación durante el experimento 1 (72 ± 26 d de lactación y $45,9 \pm 3,7$ kilogramos (kg) de peso vivo (PV) inicial) [11] y en tercera lactación durante el experimento 2 (45 ± 5 d de lactación y $47,2 \pm 4,2$ kg de peso vivo (PV) inicial) [14], así como en los experimentos 3, 4 y 5 (70 ± 5 d de lactación y $46,6 \pm 3,7$ kg de peso vivo (PV), al comienzo de la serie de experimentos) [13]. En los experimentos 1 y 2, las muestras de leche se recogieron tras 21 d de adaptación a las dietas experimentales [11, 14], mientras que en los experimentos 3, 4 y 5 se procedió a la recogida de muestras tras 15 d de adaptación [13]. Los animales se alojaron individualmente en jaulas de 1,0 x 1,4 metros (m) con suelo permeable a los excrementos y dotadas de comederos y bebederos independientes. La ración se preparó diariamente para cada una de las cabras y se repartió en dos comidas iguales a las 9:30 y 16:00 horas (h). El ordeño se realizó individualmente, una vez al día, a las 8:30 h utilizando el sistema de ordeño mecánico instalado en el alojamiento (DeLaval, Madrid, España) y apurado manual. Las muestras de leche individuales se recogieron en el último día de cada período experimental y se conservaron congeladas a -20°C (BD-379RAA, Haier, España) hasta su análisis cromatográfico.

Los procedimientos de identificación y cuantificación de los ácidos grasos de la GL están detallados [13]. La grasa láctea GL se extrajo por doble centrifugación. La primera centrifugación se hizo a 17800 g durante 30 minutos (min) (Avanti 30, Beckman, Fullerton, EUA) y la segunda se hizo a 19300 g durante 20 minutos (5415D, Eppendorf, Hamburgo, Alemania). Los ésteres metílicos se obtuvieron por metilación básica (KOH/metanol). La composición de ácidos grasos de la grasa se determinó mediante cromatografía de gases (Agilent 6890 N Network System, Palo Alto, EUA), utilizando una columna capilar de sílice fundido CP-Sil 88 (100 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,20 μm de grosor de la película interna (Varian, Middelburg, Holanda). El gas portador (helio) operó a una presión constante de 236 kilopascales (kPa) y la temperatura del inyector y del detector fue 250°C . La temperatura inicial del horno fue 160°C durante 80 min, después se elevó $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta 210°C y se mantuvo constante durante 35 min. La cuantificación de

los ésteres metílicos de ácidos grasos individuales se realizó con referencia a una GL de composición certificada (CRM 164; European Community Bureau of Reference, Bruselas, Bélgica). Los resultados se agruparon en cuatro clases de acuerdo con la ración suministrada a los animales: sin aceite añadido (CON), o con aceite de girasol alto oleico (GAO), aceite de girasol normal (GN) o aceite de lino (LIN).

Para el estudio se utilizó el programa SAS University Edition 3.5 (SAS Institute, Cary, NC, EUA). En primer lugar, los ácidos grasos y las relaciones entre ácidos grasos a incluir como variables predictoras en el modelo se seleccionaron con el procedimiento STEPDISC, con probabilidades para entrar y salir del modelo de 0,10 y 0,20, respectivamente. A continuación, se utilizó el procedimiento DISCRIM para determinar los coeficientes de las variables predictoras en las funciones discriminantes lineales. En este procedimiento, se incluyó la opción CROSSVALIDATE para comprobar la robustez de las funciones obtenidas. El procedimiento ANOVA se utilizó para la interpretación de los resultados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Debido a que los animales se mantuvieron en las mismas condiciones de manejo y alojamiento y las raciones basales fueron prácticamente idénticas (TABLA I), todos los cambios en los contenidos de AGIR de la leche estarían relacionados con el efecto de los aceites añadidos a la ración sobre el metabolismo ruminal y/o mamario. Los ácidos oleico (C18:1 cis-9) y linoleico (C18:2 cis-9, cis-12) fueron mayoritarios en los tratamientos GAO y GN, respectivamente. El tratamiento LIN fue el único que aportó cantidades relevantes de ácido α -linolénico (C18:3 cis-9, cis-12, cis-15). El tratamiento CON no aportó otros ácidos grasos que los de la dieta basal, siendo mayoritario el ácido linoleico [9].

En las muestras de GL se identificaron 21 AGIR que eluyeron individualmente, de un total de 82 ácidos grasos. Tres AGIR individuales y una suma fueron seleccionados como variables predictoras en el análisis discriminante (TABLA II). La prueba de Wilks ($\lambda = 0,40$) fue altamente significativa ($P < 0,001$), indicando que el análisis discriminante era aplicable a

TABLA I
COMPOSICIÓN DE LAS RACIONES UTILIZADAS (CON, RACIÓN BASAL SIN ACEITE AÑADIDO; GAO, RACIÓN CON ACEITE DE GIRASOL ALTO OLEICO; GN, RACIÓN CON ACEITE DE GIRASOL NORMAL; LIN, RACIÓN CON ACEITE DE LINO)

	EXP. 1				EXP. 2		EXP. 3		EXP. 4		EXP. 5			
	CON	GAO	GN	LIN	CON	GAO	CON	GN	CON	LIN	CON	GAO	GN	LIN
Cabras por tratamiento	16	16	16	16	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Dieta, g/d														
Heno de alfalfa	500	500	500	500	600	600	600	600	600	600	600	600	600	600
Concentrado ^c	1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200
Aceite ^d														
Girasol alto oleico	-	48	-	-	-	48	-	-	-	-	-	48	-	-
Girasol normal	-	-	48	-	-	-	-	48	-	-	-	-	48	-
Lino	-	-	-	48	-	-	-	-	-	48	-	-	-	48
Ácidos grasos aportados por el aceite, g/d														
C16:0	-	1,8	2,9	2,6	-	1,8	-	2,9	-	2,6	-	1,8	2,9	2,6
C18:0	-	1,4	2	1,8	-	1,4	-	2	-	1,8	-	1,4	2	1,8
C18:1 cis-9	-	41	14,2	10	-	41	-	14,2	-	10	-	41	14,2	10
C18:2 cis-9,cis-12	-	2,7	27,9	8	-	2,7	-	27,9	-	8	-	2,7	27,9	8
C18:3 cis-9,cis-12,cis-15	-	-	-	23,9	-	-	-	-	-	23,9	-	-	-	23,9

^aLa dieta basal aportó 4,8, 0,7, 5,5, 14,2 y 3,0 g/d de C16:0, C18:0, C18:1cis-9, C18:2 cis-9,cis-12 y C18:3 cis-9,cis-12,cis-15, respectivamente.

^bLa dieta basal aportó 5,1, 0,8, 6,9, 14,4 y 3,4 g/d de C16:0, C18:0, C18:1cis-9, C18:2 cis-9,cis-12 y C18:3 cis-9,cis-12,cis-15, respectivamente.

^cComposición (g/kg): maíz, 375; cebada, 374,9; harina de soja, 200; premezcla de vitaminas y minerales (Maxi Nutral Ovejas, Nutral, Madrid, España), 30; aglomerante (Exal, Tolsa, Madrid, España), 20; antioxidante (Luctanox, Lucta, Barcelona, España), 0,1.

^dIncluido en el concentrado respectivo.

los datos del presente estudio. La primera función discriminante canónica explicó el 90,9% de la varianza observada entre los grupos (FIG 1). Las correlaciones canónicas no fueron significativas en las funciones 2 y 3 ($P = 0,12$ y $0,88$, respectivamente). Las distancias de Mahalanobis entre el

tratamiento CON y los tratamientos con aceite fueron similares ($5,1$ a $6,6$; $P < 0,001$). Entre los tratamientos con aceite, la mayor distancia se observó entre los tratamientos GN y GAO ($0,95$; $P < 0,05$). No hubo diferencias en las distancias del tratamiento LIN con los tratamiento GAO ($0,27$; $P = 0,58$) y GN ($0,48$; $P = 0,28$).

TABLA II
RESULTADOS DEL ANÁLISIS DISCRIMINANTE (CON, RACIÓN BASAL SIN ACEITE AÑADIDO; GAO, RACIÓN CON ACEITE DE GIRASOL ALTO OLEICO; GN, RACIÓN CON ACEITE DE GIRASOL NORMAL; LIN, RACIÓN CON ACEITE DE LINO)

	Coeficientes estandarizados			Matriz de estructura		
	Funciones			Funciones		
	1	2	3	1	2	3
C7:0	-1,55	-0,50	-0,09	0,02	-0,21	-0,64
Metiltetradecanoato	1,51	0,37	-0,88	0,48	-0,01	-0,80
C15:0 iso	0,33	0,75	0,37	0,36	0,53	0,27
C17:0 + C17:1 cis-9	0,72	-0,74	0,33	0,53	-0,68	0,28
Autovalores (<i>eigenvalues</i>)	1,22	0,12	0,01			
% de la varianza	90,9	8,9	0,2			
Correlación canónica	0,74	0,33	0,05			
Probabilidad	<0,001	0,12	0,88			
Centroides						
CON	1,65	0,01	-0,09			
GAO	-0,56	-0,44	0,06			
GN	-0,62	0,53	0,04			
LIN	-0,91	-0,09	-0,08			

De acuerdo con los valores de los centroides (TABLA II, FIG. 1), la función 1 discriminó el tratamiento CON de los tratamientos con aceite. Los coeficientes estandarizados indicaron que las variables con mayor capacidad discriminante en la función 1 fueron C7:0 en sentido negativo y metiltetradecanoato en sentido positivo. El análisis univariado de los datos mostró que

no hubo diferencias en la suma de los contenidos de C7:0 y metiltetradecanoato ($P=0,19$) ni en la suma de los contenidos de los ácidos grasos impares de cadena corta (C5:0, C7:0 y C9:0) y los ácidos grasos con grupos metilos no terminales (metiloctanoato, metildecanoato, metiltetradecanoato y metildodecanoato) incluidos en el presente estudio ($P = 0,38$).

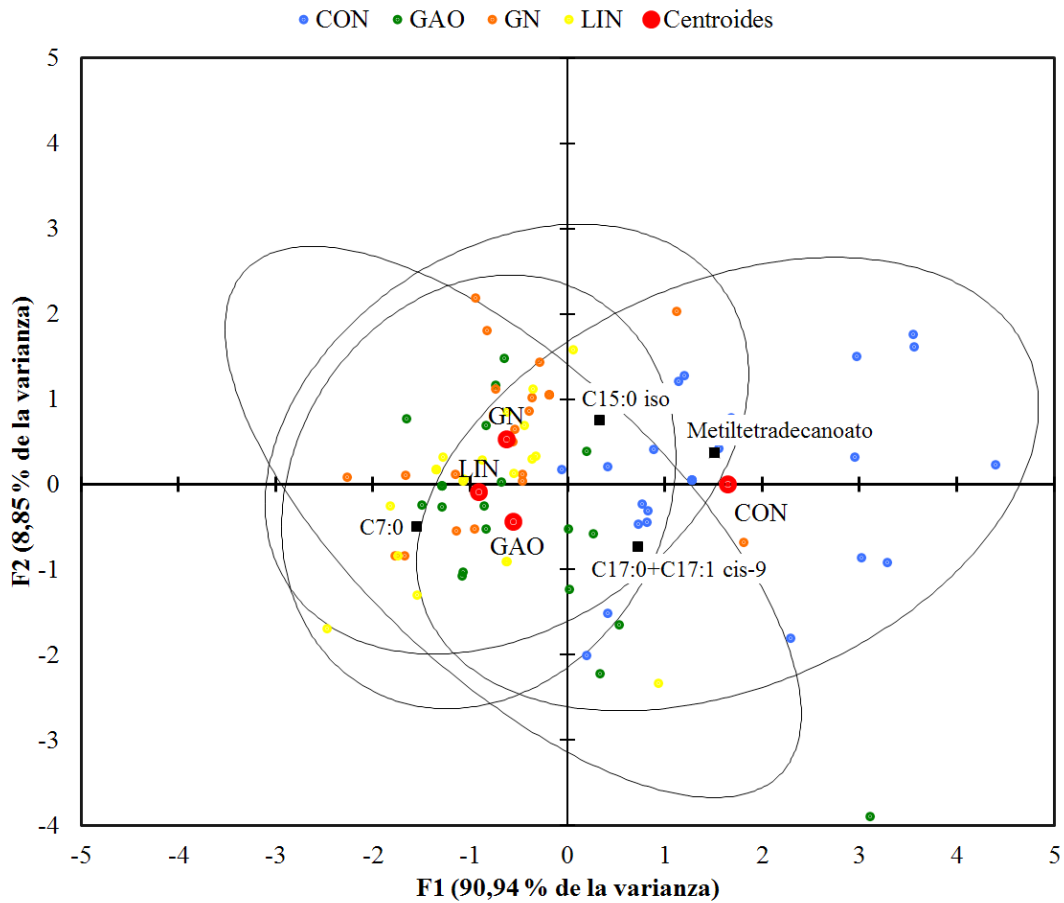


FIGURA 1. PUNTUACIONES DISCRIMINANTES DE LAS OBSERVACIONES INDIVIDUALES PARA CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS EN LAS DOS PRIMERAS FUNCIONES CANÓNICAS (CON, RACIÓN BASAL SIN ACEITE AÑADIDO; GAO, RACIÓN CON ACEITE DE GIRASOL ALTO OLEICO; GN, RACIÓN CON ACEITE DE GIRASOL NORMAL; LIN, RACIÓN CON ACEITE DE LINO)

Por tanto, los resultados obtenidos sugirieron que el ácido propiónico que escapó al metabolismo hepático y estuvo disponible para la síntesis de ácidos grasos en la glándula mamaria fue similar entre tratamientos, siendo incorporado a la GL, previa conversión a ácido metilmalónico, en mayor medida en las cabras que consumieron el tratamiento CON [5, 16, 17]. De acuerdo con lo anterior, los tratamientos con aceite pudieron modificar el aroma de la leche en comparación con el tratamiento CON [24].

La función 2 discriminó débilmente al tratamiento GN del tratamiento GAO (TABLA II, FIG. 1). La mayor capacidad discriminante se debió a C15:0 iso en sentido positivo y a la suma C17:0 + C17:1 cis-9 en sentido negativo. Algunas especies de bacterias ruminales con actividad amilolítica (*Succinomonas amylolytica*, *Prevotella* spp.) son especialmente ricas en C15:0 iso [4, 21]. Por tanto, el poder discriminatorio de C15:0 iso a favor del tratamiento GN indicaría que dicho tratamiento modificó el ambiente ruminal favoreciendo un mayor crecimiento de las poblaciones microbianas mencionadas más arriba frente a otras especies tanto amilolíticas como celulolíticas.

Las funciones discriminantes de Fisher y la tasa de acierto en la clasificación de las observaciones se muestran en la TABLA III. La tasa de acierto fue muy superior en las observaciones del tratamiento CON que en los tratamientos con aceite. En éstos, la mejor tasa de acierto se observó en el tratamiento GN y la peor en el tratamiento GAO. Las observaciones del tratamiento GAO se confundieron en gran medida con las del tratamiento LIN, y las de este se confundieron principalmente con las del tratamiento GN. El porcentaje de acierto global en la validación cruzada (53,2%) fue inferior a los encontrados en estudios previos [6, 12] (100 y 98,9%, respectivamente), pero en dichos trabajos no se investigó la habilidad discriminante de un grupo específico de ácidos grasos de la GL. En el presente trabajo, las variables predictoras se seleccionaron únicamente entre los AGIR. En el trabajo de Gaspardo y col. [6] todos los ácidos grasos identificados (un total de 53) se utilizaron como variables predictoras, mientras que en el trabajo de Martínez-Marín y col. [12] se seleccionaron hasta 20 variables predictoras de los 82 ácidos grasos identificados en total.

TABLA III

FUNCIONES DISCRIMINANTES DE FISHER Y TASAS DE ACIERTO CON LA MATRIZ ORIGINAL Y TRAS LA VALIDACIÓN CRUZADA (CON, RACIÓN BASAL SIN ACEITE AÑADIDO; GAO, RACIÓN CON ACEITE DE GIRASOL ALTO OLEICO; GN, RACIÓN CON ACEITE DE GIRASOL NORMAL; LIN, RACIÓN CON ACEITE DE LINO)

	CON	GAO	GN	LIN
Constante	-51,6	-36,2	-36,7	-34,1
C7:0	-407,6	-200,0	-221,9	-177,9
Metiltetradecanoato	320,1	154,7	167,7	141,5
C15:0 iso	408,3	348,3	388,7	353,8
C17:0 + C17:1 cis-9	69,5	55,9	47,5	49,8
Tasa de acierto con la matriz original				
CON	82,1	10,7	7,1	0,0
GAO	4,5	36,4	22,7	36,4
GN	9,1	0	54,5	36,4
LIN	4,5	9,1	27,3	59,1
Tasa de acierto con validación cruzada				
CON	82,1	10,7	7,1	0,0
GAO	4,5	31,8	22,7	40,9
GN	9,1	4,5	50,0	36,4
LIN	4,5	18,2	36,4	40,9

CONCLUSIONES

Se comprobó que el análisis discriminante lineal permitió separar de forma acertada las muestras de GL de cabras que consumieron raciones sin aceite de las de aquellas cuya ración incluyó aceites vegetales, a partir de los contenidos de tan solo cuatro AGIR (C7:0, metiltetradecanoato, C15:0 iso y la suma de C17:0 + C17:1 cis-9), identificados y cuantificados por cromatografía gaseosa. Sin embargo, la clasificación de las muestras de grasa láctea de acuerdo con el grado de insaturación de los aceites suministrados a los animales tuvo una baja tasa de aciertos. Los AGIR de la GL fueron mejores indicadores de la presencia de aceite vegetal en la ración que del tipo de suplemento lipídico incluido en la misma.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BAUMANN, E.; CHOUINARD, P. Y.; LEBEUF, Y.; RICO, D. E.; GERVAIS, R. Effect of lipid supplementation on milk odd-and branched-chain fatty acids in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 99(8):6311-6323. 2016.
- [2] BERNARD, L.; SHINGFIELD, K. J.; ROUEL, J.; FERLAY, A.; CHILLIARD, Y. Effect of plant oils in the diet on performance and milk fatty acid composition in goats fed diets based on grass hay or maize silage. *British J. Nutri.* 101(2):213-224. 2009.
- [3] CAI, Q.; HUANG, H.; QIAN, D.; CHEN, K.; LUO, J.; TIAN, Y.; LIN, T.; LIN, T. 13-Methyltetradecanoic acid exhibits anti-tumor activity on T-Cell lymphomas in vitro and in vivo by downregulating p-AKT and activating caspase-3. *PLoS ONE* 8(6):e65308. 2013.
- [4] FIEVEZ, V.; COLMAN, E.; CASTRO-MONTOYA, J. M.; STEFANOV, I.; VLAEMINCK, B. Milk odd-and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function—An update. *Anim. Feed Sci. Technol.* 172(1):51-65. 2012.
- [5] FRENCH, E. A.; BERTICS, S. J.; ARMENTANO, L. E. Rumen and milk odd-and branched-chain fatty acid proportions are minimally influenced by ruminal volatile fatty acid infusions. *J. Dairy Sci.* 95(4):2015-2026. 2012.
- [6] GASPARD, B.; LAVRENČIČ, A.; LEVART, A.; DEL ZOTTO, S.; STEFANON, B. Use of milk fatty acids composition to discriminate area of origin of bulk milk. *J. Dairy Sci.* 93(8):3417-3426. 2010.

- [7] HA, J. K.; LINDSAY, R. C. Release of volatile branched-chain and other fatty acids from ruminant milk fats by various lipases. **J. Dairy Sci.** 76(3):677-690. 1993.
- [8] HARFOOT, C.; HAZLEWOOD, G. Lipid metabolism in the rumen. In: **The Rumen Microbial Ecosystem**. Hobson, P.N.; Stewart, C.S. (Eds.) Chapman and Hall, London, UK. Pp 382-426. 1997.
- [9] INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE (INRA). Tables de Composition et de Valeur Nutritive des Matières Premières Destinées aux Animaux d'Élevage. Editorial INRA, Paris. 301 pp. 2002.
- [10] JENKINS, B.; WEST, J. A.; KOULMAN, A. A review of odd-chain fatty acid metabolism and the role of pentadecanoic acid (C15:0) and heptadecanoic acid (C17:0) in health and disease. **Molec.** 20(2):2425-2444. 2015.
- [11] MARTÍNEZ-MARÍN, A. L.; GÓMEZ-CORTÉS, P.; GÓMEZ-CASTRO, G.; JUÁREZ, M.; PÉREZ-ALBA, L.; PÉREZ-HERNÁNDEZ, M.; DE LA FUENTE, M. A. Animal performance and milk fatty acid profile of dairy goats fed diets with different unsaturated plant oils. **J. Dairy Sci.** 94(11):5359-5368. 2011.
- [12] MARTÍNEZ-MARÍN, A. L.; GÓMEZ-CORTÉS, P.; GÓMEZ-CASTRO, G.; JUÁREZ, M.; PÉREZ-ALBA, L.; PÉREZ-HERNÁNDEZ, M.; DE LA FUENTE, M. A. (2012a). Short communication: Linear discriminant analysis and type of oil added to dairy goat diets. **J. Dairy Sci.** 95(7):4045-4049. 2012a.
- [13] MARTÍNEZ-MARÍN, A. L.; GÓMEZ-CORTÉS, P.; GÓMEZ-CASTRO, G.; JUÁREZ, M.; PÉREZ-ALBA, L.; PÉREZ-HERNÁNDEZ, M.; DE LA FUENTE, M. A. Effects of feeding increasing dietary levels of high oleic or regular sunflower or linseed oil on fatty acid profile of goat milk. **J. Dairy Sci.** 95(4):1942-1955. 2012b.
- [14] MARTÍNEZ-MARÍN, A. L.; GÓMEZ-CORTÉS, P.; PÉREZ-ALBA, L. M.; JUÁREZ, M.; GÓMEZ-CASTRO, A. G.; PÉREZ-HERNÁNDEZ, M.; DE LA FUENTE, M. A. Adición de aceites vegetales a la dieta de cabras lecheras: efecto sobre el contenido de ácidos grasos de la grasa láctea. **Arch. Med. Vet.** 45(3):259-266. 2013.
- [15] MASSART-LEËN, A. M.; DE POOTER, H.; DECLOEDT, M.; SCHAMP, N. Composition and variability of the branched-chain fatty acid fraction in the milk of goats and cows. **Lipids.** 16(5):286-292. 1981.
- [16] MASSART-LEËN, A. M.; MASSART, D. L. The use of clustering techniques in the elucidation or confirmation of metabolic pathways. Application to the branched-chain fatty acids present in the milk fat of lactating goats. **Biochem. J.** 196(2):611-618. 1981.
- [17] MASSART-LEËN, A. M.; ROETS, E.; PEETERS, G.; VERBEKE, R. Propionate for fatty acid synthesis by the mammary gland of the lactating goat. **J. Dairy Sci.** 66(7):1445-1454. 1983.
- [18] MELE, M.; SERRA, A.; BUCCIONI, A.; CONTE, G.; POLLICARDO, A.; SECCHIARI, P. Effect of soybean oil supplementation on milk fatty acid composition from Saanen goats fed diets with different forage: concentrate ratios. **Ital. J. Anim. Sci.** 7(3):297-312. 2008.
- [19] OLLIER, S.; LEROUX, C.; DE LA FOYE, A.; BERNARD, L.; ROUEL, J.; CHILLIARD, Y. Whole intact rapeseeds or sunflower oil in high-forage or high-concentrate diets affects milk yield, milk composition, and mammary gene expression profile in goats. **J. Dairy Sci.** 92(11):5544-5560. 2009.
- [20] OR-RASHID, M. M.; ODONGO, N. E.; MCBRIDE, B. W. (2007). Fatty acid composition of ruminal bacteria and protozoa, with emphasis on conjugated linoleic acid, vaccenic acid, and odd-chain and branched-chain fatty acids. **J. Anim. Sci.** 85(5):1228-1234. 2007.
- [21] VLAEMINCK, B.; FIEVEZ, V.; CABRITA, A. R. J.; FONSECA, A. J. M.; DEWHURST, R. J. Factors affecting odd-and branched-chain fatty acids in milk: a review. **Anim. Feed Sci. Technol.** 131(3), 389-417. 2006.
- [22] VLAEMINCK, B.; GERVAIS, R.; RAHMAN, M. M.; GADEYNE, F.; GORNIK, M.; DOREAU, M.; FIEVEZ, V. Post-ruminal synthesis modifies the odd-and branched-chain fatty acid profile from the duodenum to milk. **J. Dairy Sci.** 98(7):4829-4840. 2015.
- [23] WONGTANGTINTHARN, S.; OKU, H.; IWASAKI, H.; TODA, T. Effect of branched-chain fatty acids on fatty acid biosynthesis of human breast cancer cells. **J. Nutri. Sci. Vitaminol.** 50(2):137-143. 2004.
- [24] WOO, A. H.; LINDSAY, R. C. Concentrations of major free fatty acids and flavor development in Italian cheese varieties. **J. Dairy Sci.** 67(5):960-968. 1984.