

Trabajo de IC previo a la
obtención del título de
Ingeniería en Biotecnología

Determinación del perfil lipídico y microbiológico de la leche proveniente de vacas con mastitis

Melanie Maylen Salazar Canchala



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS

INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA





Introducción



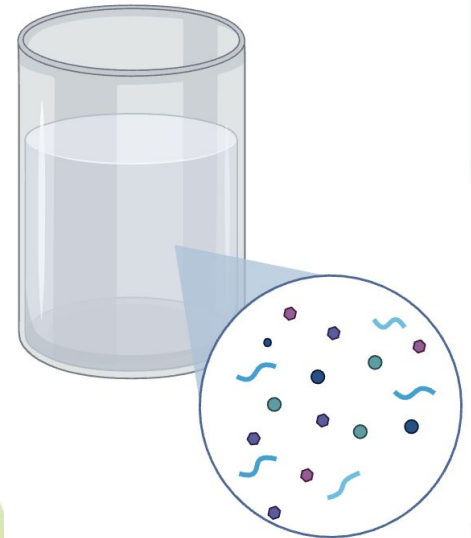
- Con base en los datos publicados por el INEC (2021) acerca de la producción de leche en Ecuador en 2020 → promedio de 6.152.841 litros de leche

- Sector agropecuario brinda un gran aporte al PIB: 1.5 millones de empleos (Ramírez, 2016).

Mantener estabilidad es crucial para la economía de gran parte de la población ecuatoriana.

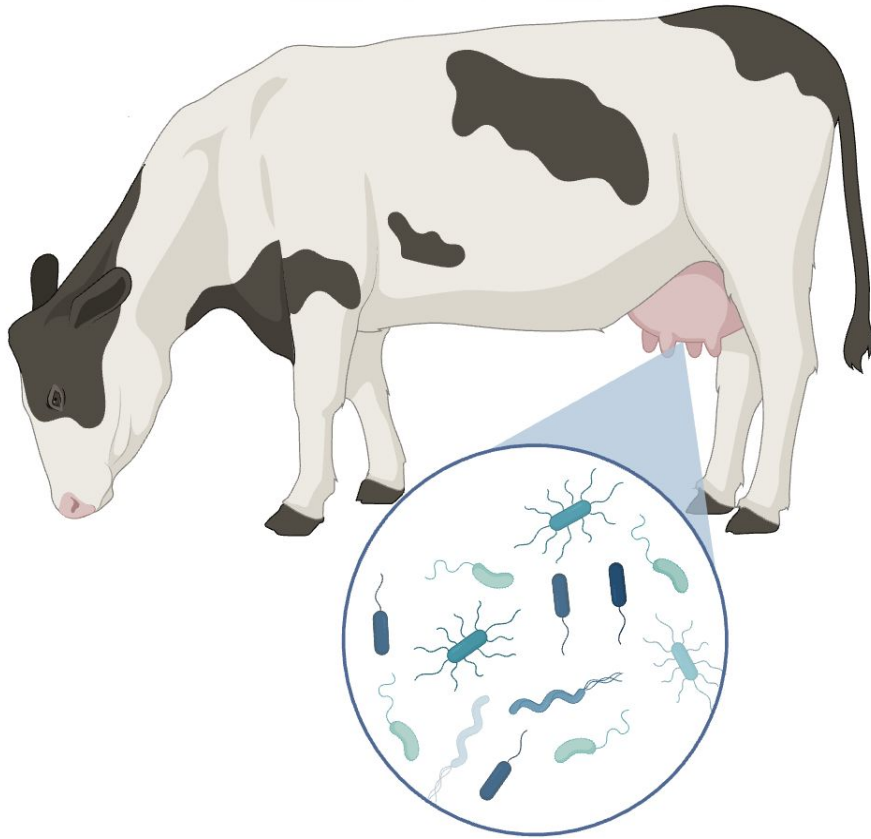
Leche → indispensable en la dieta humana.

- Buena composición nutricional: fuente de vitaminas, proteínas, minerales y ácidos grasos (Górska et al., 2019; Pereira y Vicente, 2017).





Introducción



➤ Mastitis

Infección del tejido mamario

- **M. clínica (MC) y subclínica (MSC)**

- ➔ MSC: eleva riesgo de enfermedades zoonóticas (Schadt, 2023).
- ➔ Posible alteración a la calidad nutricional de la leche

El estudio del contenido de lípidos y microorganismos de leche proveniente de vacas con MSC es fundamental.



Objetivos



Objetivo general

- Determinar el perfil lipídico y microbiológico de la leche proveniente de vacas con mastitis en el área de influencia de la universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

Objetivos específicos

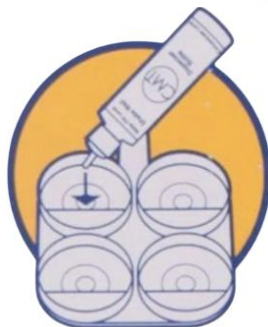
- Realizar el plan de muestreo para identificación de casos de mastitis en el ganado bovino de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.
- Identificar microbiológicamente los agentes causales de mastitis.
- Determinar el perfil lipídico de la leche mediante cromatografía de gases.



Metodología



1. Determinación de mastitis subclínica en el ganado de interés con kit CMT.



SDS y cristal violeta
→ reacciona con el ADN y las proteínas de las células somáticas, formando un gel.

Tabla 1

Cómo realizar la lectura de la reacción del test.

Lectura CMT	Criterios a considerar
Negativo	El estado de la solución permanece inalterado. La mezcla sigue en estado líquido.
Trazas	Se torna un precipitado en el piso de la paleta que desaparece pronto.
1(+)	Hay mayor precipitado, pero no se forma gel.
2(++)	El precipitado se torna denso y se concentra en el centro.
3(+++)	Se torna un gel muy denso que se adhiere a la paleta.

Nota. Tomado y adaptado de Ficha técnica del CMT por Laboratorios Industriales

Farmacéuticos Ecuatoriano (LIFE) (2022).

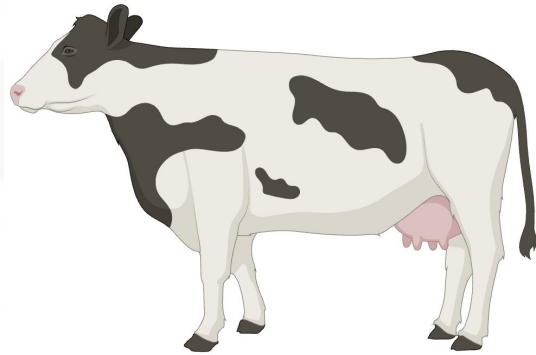


Metodología



2. Análisis de microbiológico de la leche proveniente de vacas con MSC

2.1. Toma de muestras



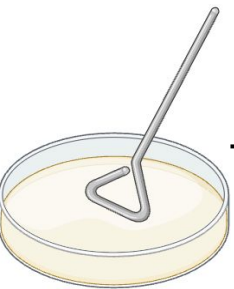
Vaca con MSC



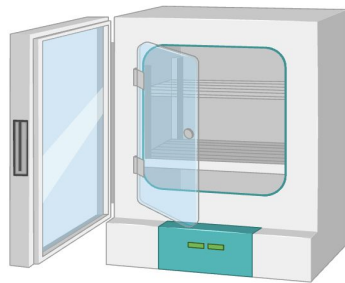
Desinfección: solución de yodo 0.5% y alcohol 70%



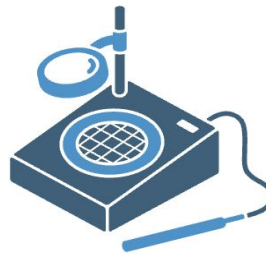
2.2. Siembra y aislamiento



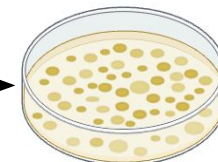
3 μ L de leche



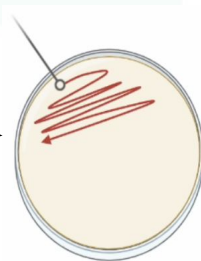
Incubar 24h a 37°C



Contar UFC



Descripción morfológica y selección de colonias



Siembra de colonias individuales



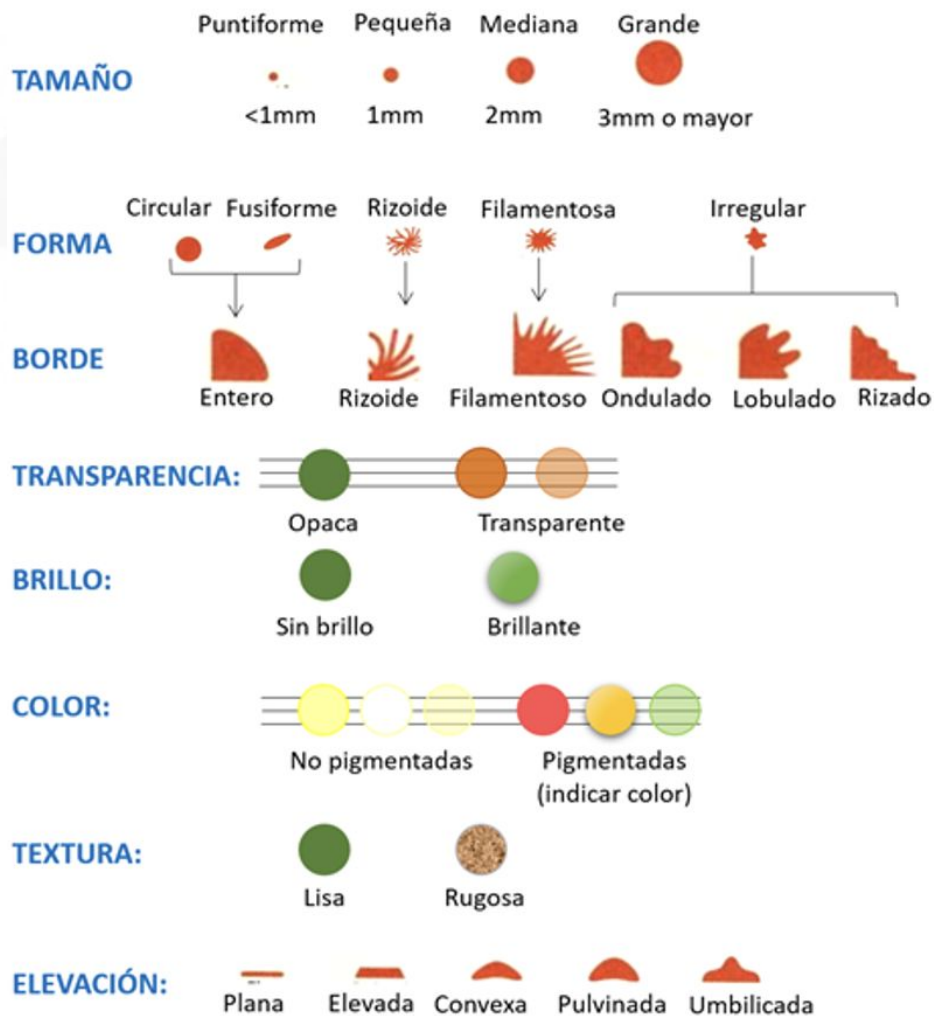
Metodología



2. Análisis de microbiológico de la leche proveniente de vacas con MSC

Figura 1

Crterios para la descripción morfológica de colonias bacterianas y nomenclatura para cada aislado



Letra designada	Muestra
A	(200)
B	(144)
C	(192)
D	(181)
E	(187)
F	(199)
G	(103)
H	(168)
I	(172)
J	(163)
K	(150)
L	(147)
M	(149)
N	(185)
O	(133)

Nota. Por Guillen (2020).



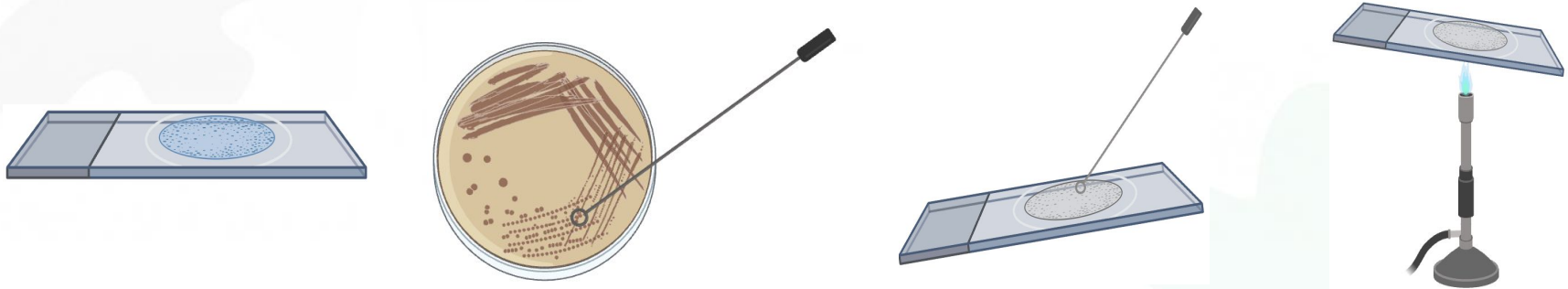
Metodología



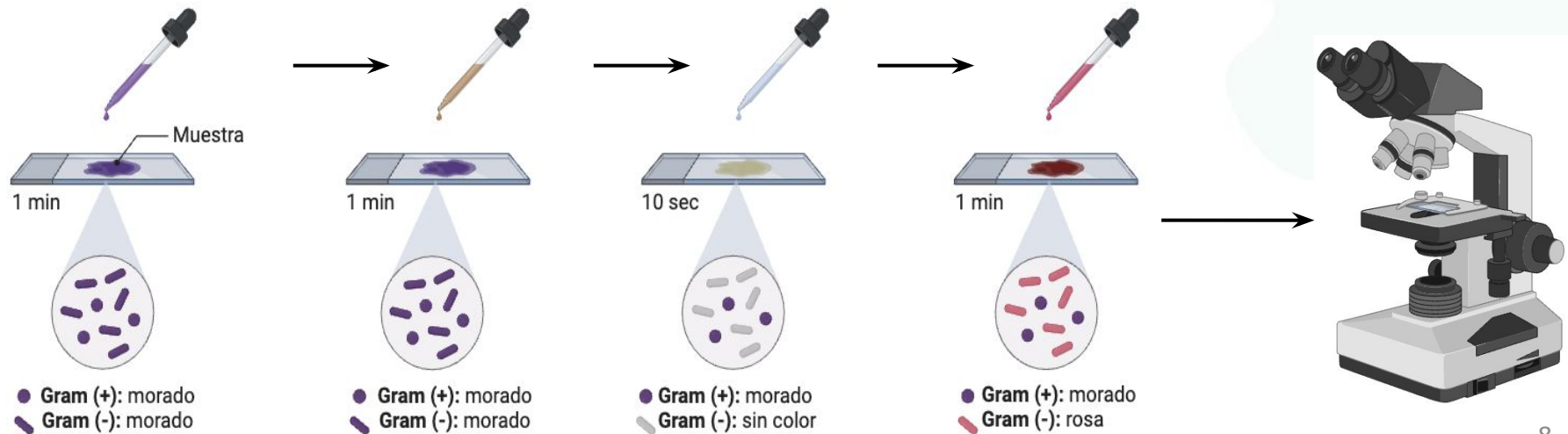
2. Análisis de microbiológico de la leche proveniente de vacas con MSC

2.3. Tinción gram

•Fijación de bacterias



•Tinción gram





Metodología



2. Análisis de microbiológico de la leche proveniente de vacas con MSC

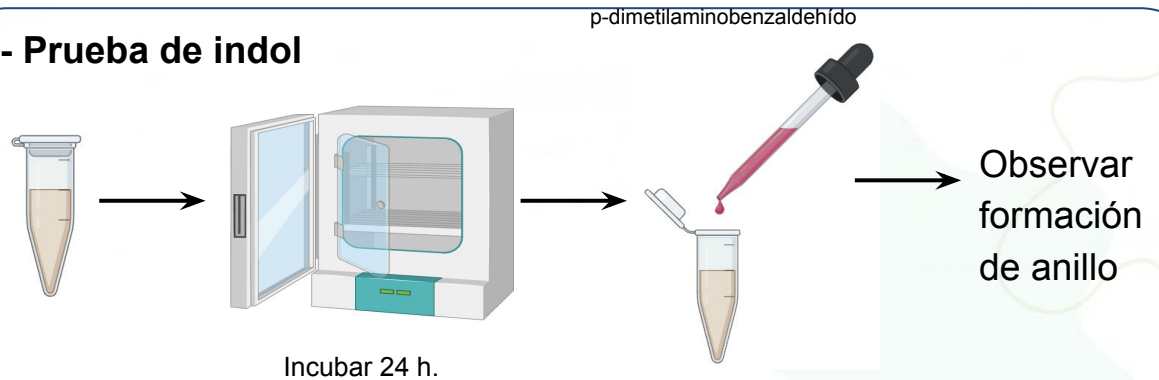
2.3. Pruebas bioquímicas

Según MacFaddin (2000).

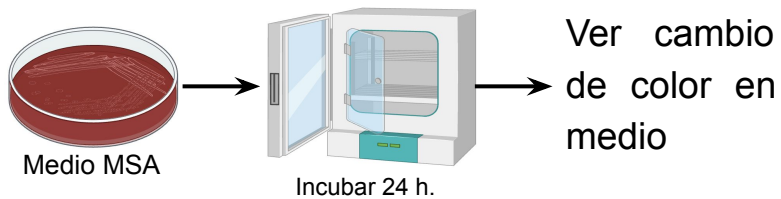
- Prueba de la catalasa



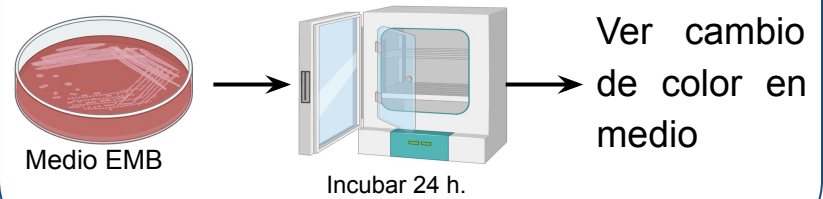
- Prueba de indol



- Prueba de fermentación de manitol



- Prueba de fermentación de lactosa



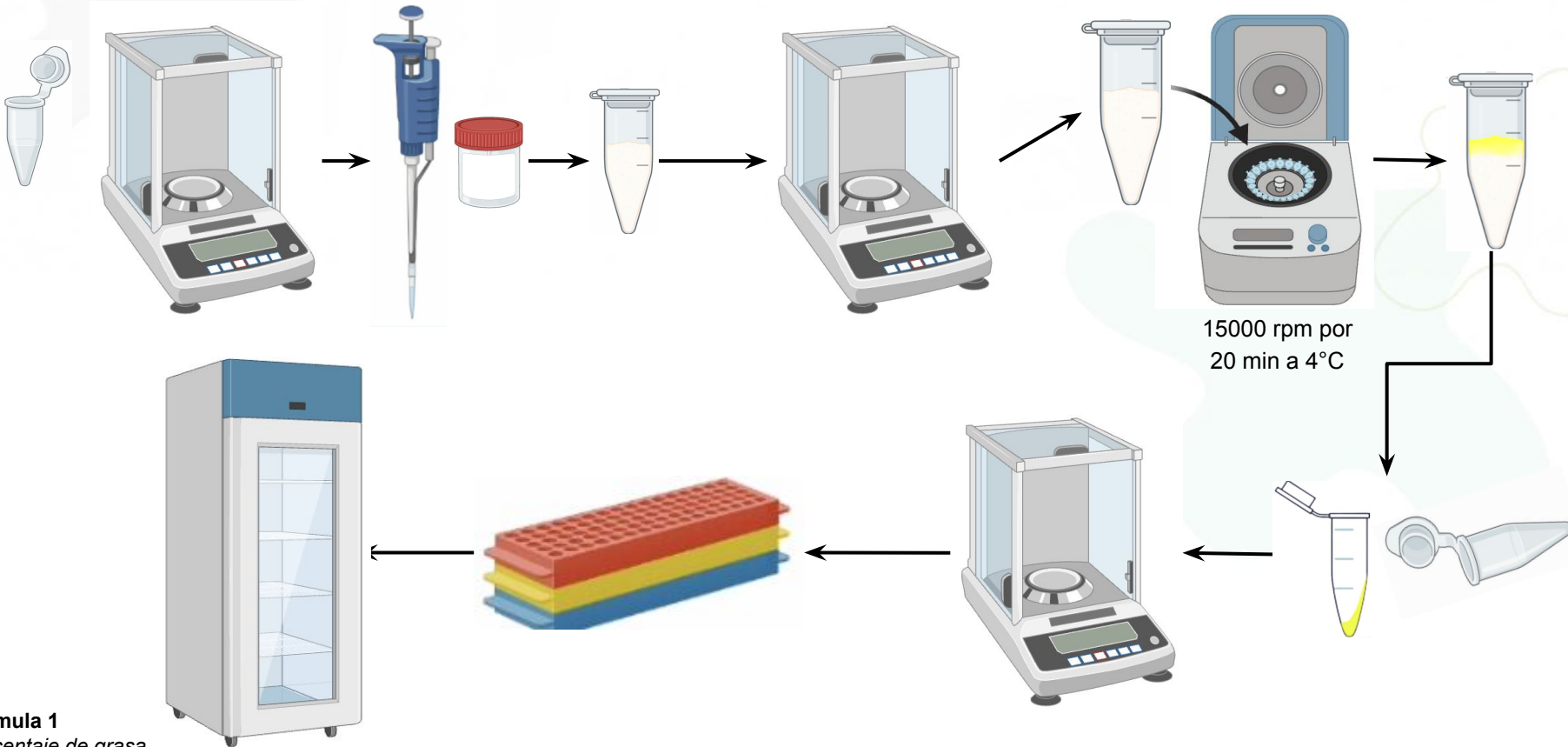


Metodología



3. Análisis cromatográfico para determinar perfil lipídico en leche

3.1. Obtener grasa de la leche



Fórmula 1

Porcentaje de grasa

$$\%grasa = \frac{(masa\ de\ recipiente + masa\ de\ la\ muestra) - masa\ de\ recipiente}{masa\ de\ la\ muestra} \times 100$$

Nota. Tomado y adaptado de Effect of fat extraction methods on the fatty acids composition of bovine milk using gas chromatography de Moneeb et al. (2021).

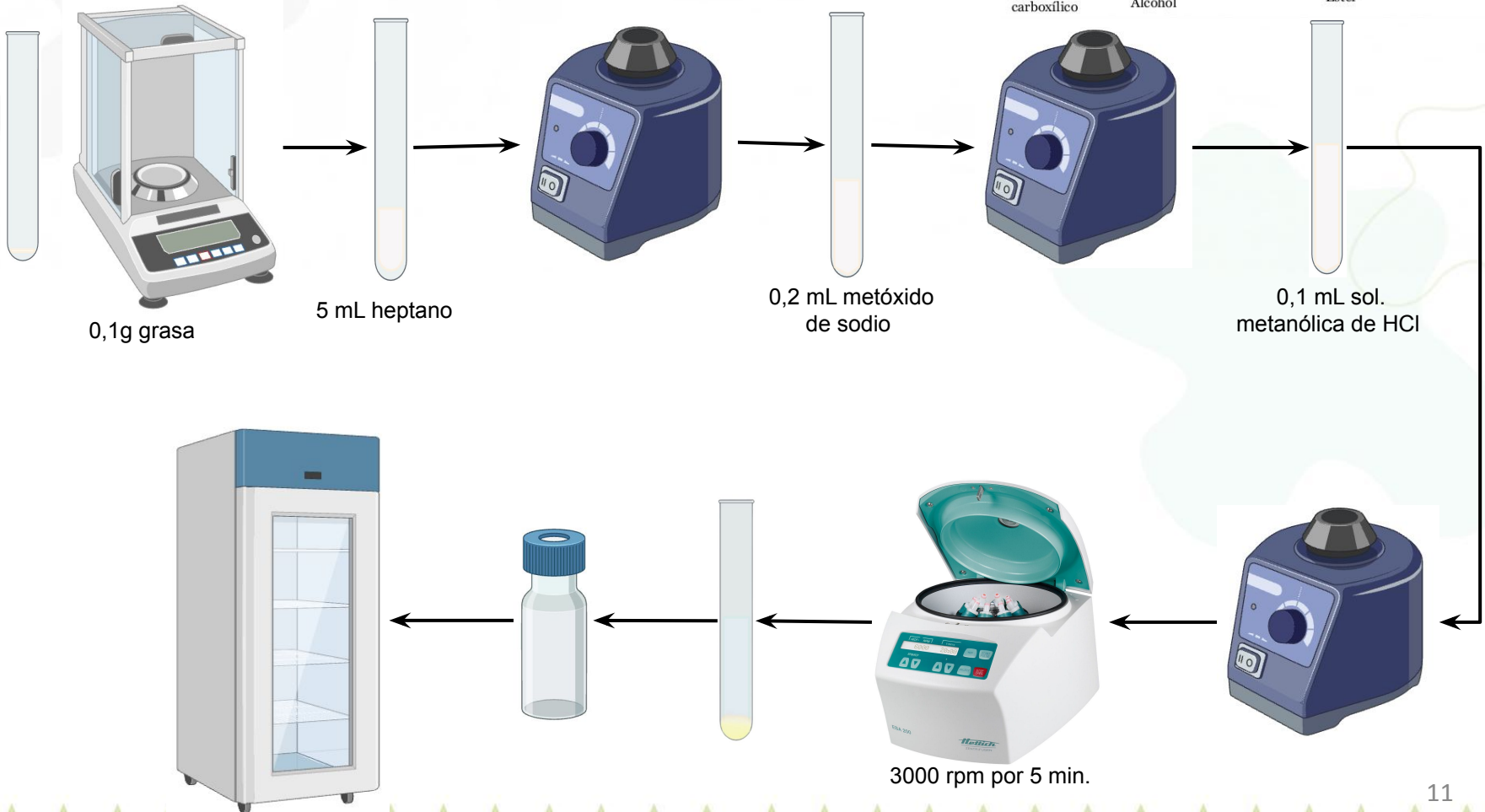
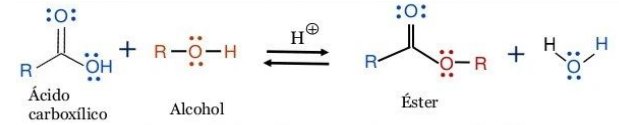


Metodología



3. Análisis cromatográfico para determinar perfil lipídico en leche

3.2. Esterificación de la grasa (ISO 15884:2002)





Metodología

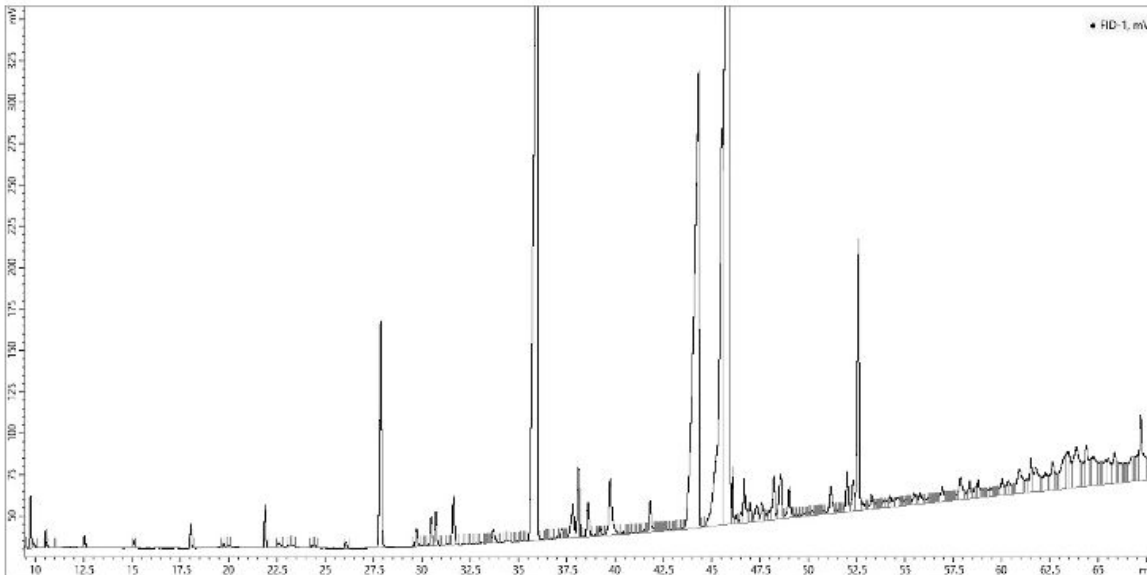


3. Análisis cromatográfico para determinar perfil lipídico en leche

3.4. Análisis en cromatógrafo Chromatec Crystal 9000



3.5. Lectura del cromatograma



Utiliza la quema de los componentes para generar una señal eléctrica proporcional a sus concentraciones.

- Posición del pico.
- Area: [C].



Resultados



1. Determinación de mastitis subclínica en el ganado de interés

Tabla 2

Lectura de la reacción de la prueba CMT para determinación de mastitis.

Muestra	Lectura CMT	Muestra	Lectura CMT
157	-	192	+
175	-	150	+
152	-	149	+
148	-	144	+
173	-	199	+
96	-	147	+
178	-	185	+
191	-	163	++
125	-	133	++
172	+	181	++
168	+	103	++
200	+	187	+++



Resultados



2. Perfil microbiológico de leche proveniente de vacas con mastitis

Tabla 3

Recuento de UFC en placas sembradas

Muestra	Recuento de colonias (UFC / 3 μ L)
172 (+)	523
168 (+)	68
200 (+)	307
192 (+)	226
150 (+)	350
149 (+)	33
144 (+)	223
199 (+)	486
147 (+)	489
185 (+)	295
163 (++)	248
133 (++)	420
181 (++)	96
103 (++)	400
187 (+++)	47

TNF- α \rightarrow activado por respuesta Th1

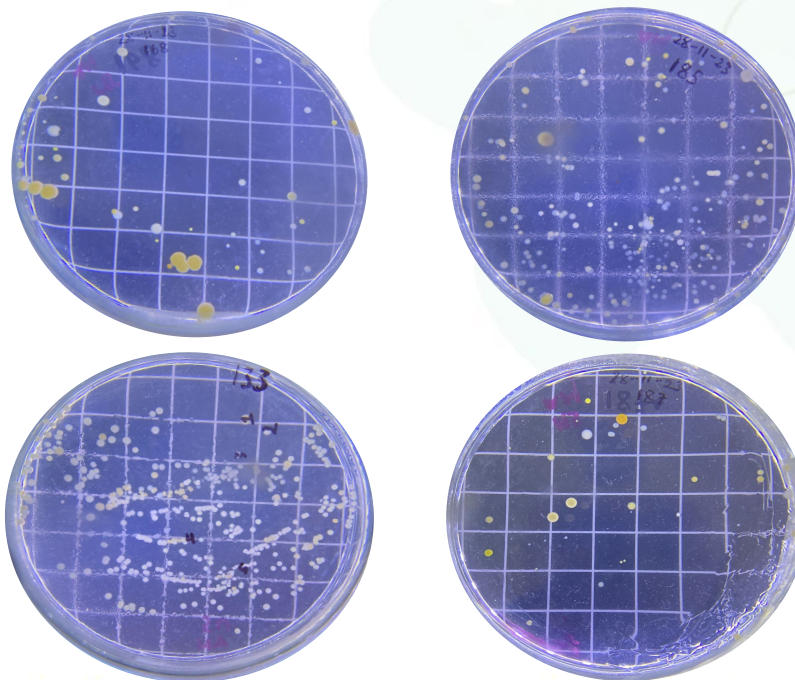
- o Mayor y mejor respuesta de los macrófagos.

IL-1 \rightarrow induce respuesta Th2

- o IgA \rightarrow protege glándula mamaria

Figura 2

Placas petri inoculadas





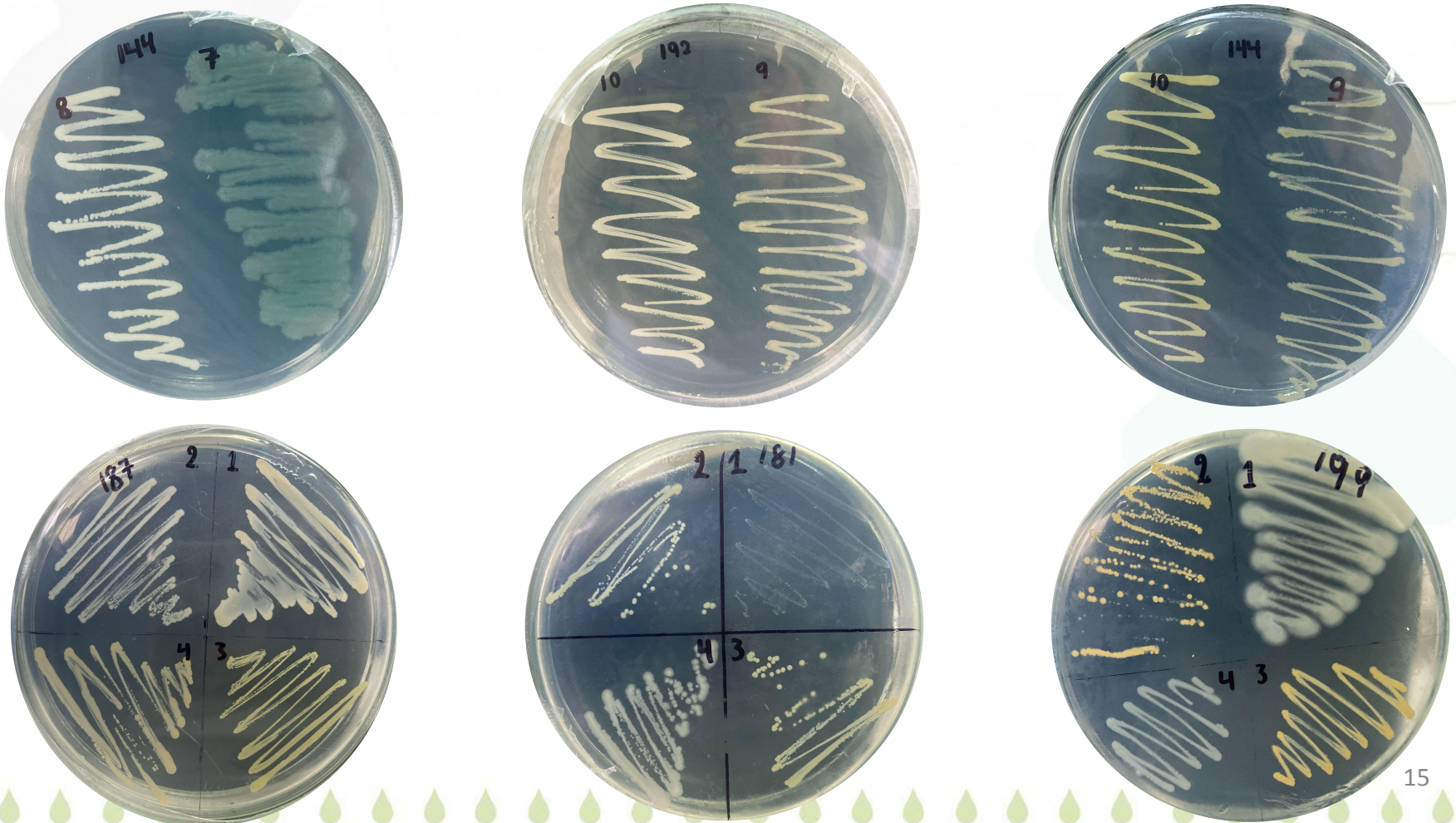
Resultados



2. Perfil microbiológico de leche proveniente de vacas con mastitis

Figura 3

Aislados bacterianos en placas con agar nutriente





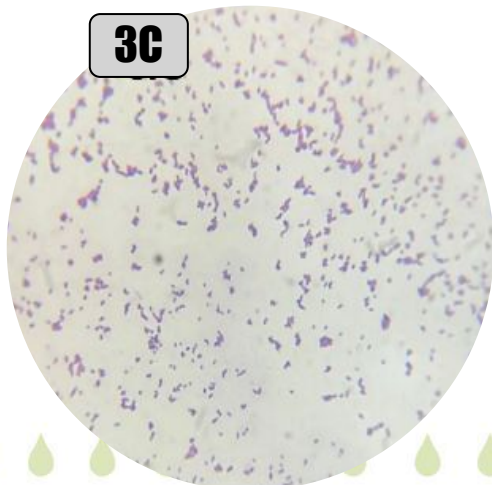
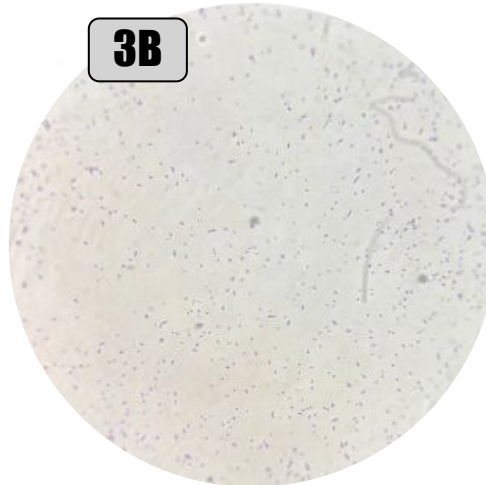
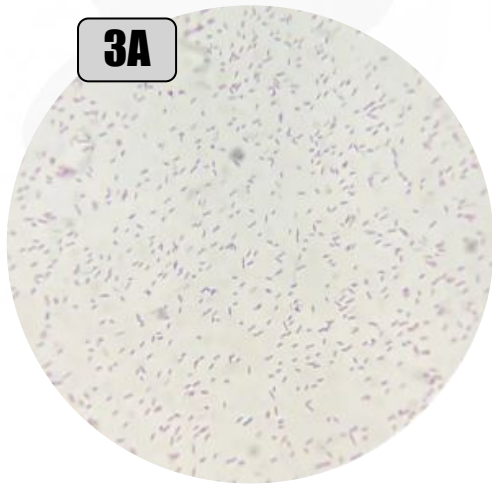
Resultados



2. Perfil microbiológico de leche proveniente de vacas con mastitis

Figura 4

Algunos aislados bacterianos teñidos de acuerdo con la prueba de Gram.



Se visualizaron algunas bacterias gram positivas con morfología de bacilos (3.A) y cocos, similar a estreptococos (3.B) y estafilococos (3.C), y bacterias gram negativas con morfología de bacilos (3.D).



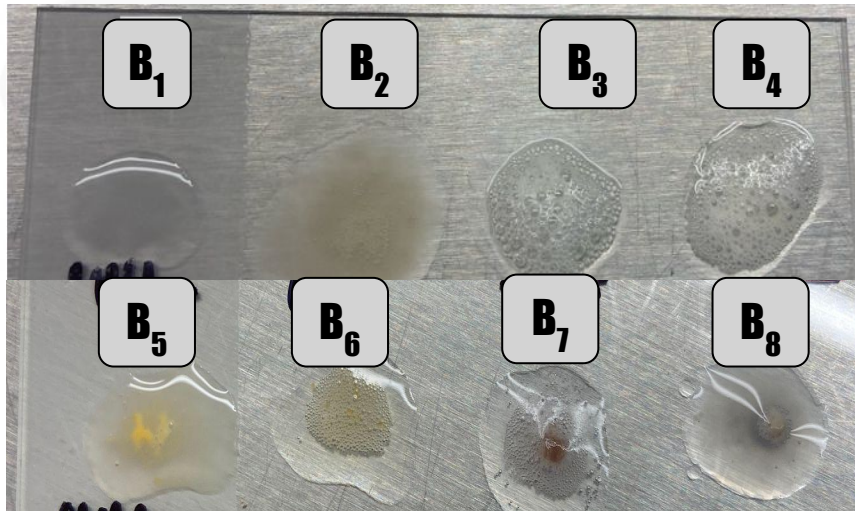
Resultados



2. Perfil microbiológico de leche proveniente de vacas con mastitis

Figura 5

Resultados ante la prueba de catalasa en aislados bacterianos.



Nota. El burbujeo señaló presencia de enzima catalasa en el aislado.

44 colonias aisladas: +

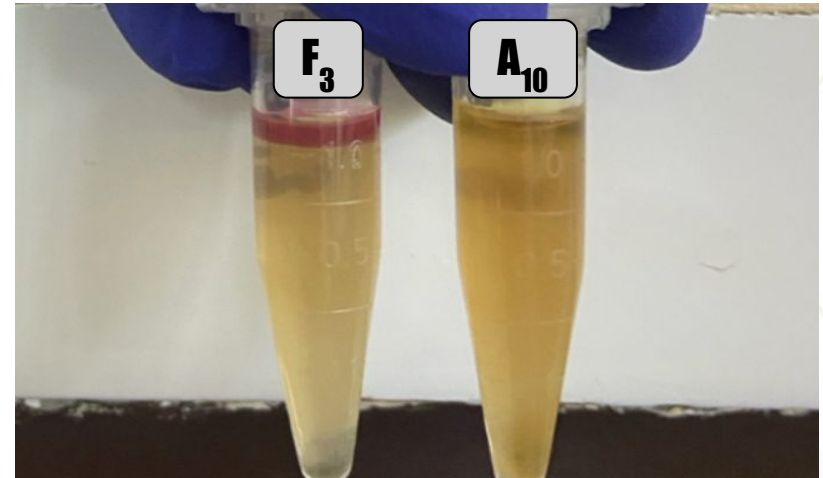
- Posibles *Staphylococcus*

48 colonias negativas: -

- Posibles *Streptococcus*

Figura 6

Resultados ante la prueba de indol en aislados bacterianos.



Nota. El anillo rosa señaló la producción de indol tras la oxidación del triptófano debido a la actividad metabólica de la bacteria.

1 colonia aislada: +

- Posible *E. coli*



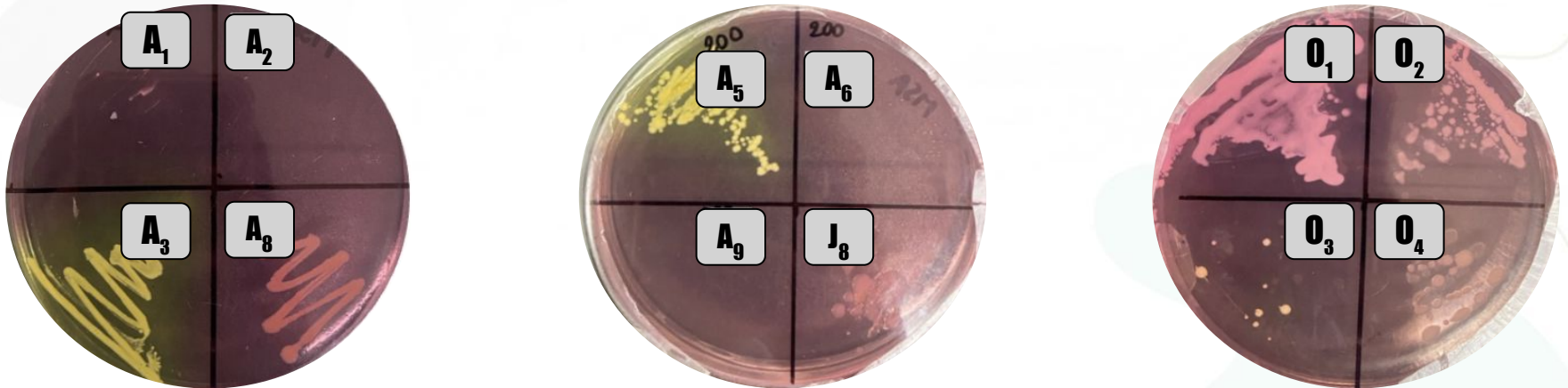
Resultados



2. Perfil microbiológico de leche proveniente de vacas con mastitis

Figura 7

Resultados de la prueba de fermentación de manitol empleando MSA.



Nota. El cambio de color rojo a amarillo indica la fermentación de manitol

Colonias aisladas: +

Positivos para catalasa y fermentación de manitol, gram+ con forma de cocos (MacFaddin, 2000)

- *Staphylococcus aureus*



Resultados



2. Perfil microbiológico de leche proveniente de vacas con mastitis

Figura 8

Resultados de la prueba de fermentación de lactosa utilizando EMB para diferenciar *E. coli*



Nota. El crecimiento bacteriano acompañado de un brillo metálico verdoso indica que la prueba es positiva para fermentación de lactosa.

■ *E. coli*:

Descompone el triptófano para producir indol, produce catalasa para descomponer el H_2O_2 , fermenta lactosa pero es incapaz de fermentar manitol (MacFaddin, 2000).



Resultados



2. Perfil microbiológico de leche proveniente de vacas con mastitis

Tabla 4

Resultados de la tinción Gram y las pruebas bioquímicas realizadas en los aislados

Numeración del aislado	Tinción Gram	Catalasa	Indol	F. de manitol salado	F. lactosa	Morfología microscópica	Posible género bacteriano
A ₁	-	+	-	-	-	Bacilos	<i>P. aeruginosa</i>
A ₃	+	+	-	+	-	Estafilococos	<i>S. aureus</i>
A ₅	+	+	-	+	-	Estafilococos	<i>S. aureus</i>
B ₂	-	+	-	-	-	Bacilos	<i>P. aeruginosa</i>
B ₃	+	+	-	+	-	Estafilococos	<i>S. aureus</i>
B ₇	+	+	-	+	-	Estafilococos	<i>S. aureus</i>
C ₂	-	+	-	-	-	Bacilos	<i>P. aeruginosa</i>
D ₃	-	+	-	-	-	Bacilos	<i>P. aeruginosa</i>
E ₃	+	-	-	-	-	Estreptococos	<i>Streptococcus spp.</i>
F ₃	-	+	+	-	+	Bacilos	<i>E. coli</i>
G ₁	-	+	-	-	-	Bacilos	<i>P. aeruginosa</i>
H ₃	+	-	-	-	-	Estreptococos	<i>Streptococcus spp.</i>
I ₂	-	+	-	-	-	Bacilos	<i>P. aeruginosa</i>
J ₁	-	+	-	-	-	Bacilos	<i>P. aeruginosa</i>
J ₆	+	-	-	-	-	Estreptococos	<i>Streptococcus spp.</i>
K ₁	-	+	-	-	-	Bacilos	<i>P. aeruginosa</i>
L ₁	+	-	-	-	-	Estreptococos	<i>Streptococcus spp.</i>
L ₈	-	+	-	-	-	Bacilos	<i>P. aeruginosa</i>
M ₁	+	-	-	-	-	Estreptococos	<i>Streptococcus spp.</i>
M ₂	+	+	-	-	-	Bacilos	<i>Bacillus spp.</i>
N ₄	+	+	-	-	-	Bacilos	<i>Bacillus spp.</i>
O ₃	+	+	-	+	-	Estafilococos	<i>S. aureus</i>

P. aeruginosa: colonias amarillas verdosa en agar nutriente (Rai et al., 2017).

22 causantes de mastitis

- *Pseudomonas aeruginosa*
- *S. aureus*
- *Streptococcus spp.*
- *E. coli*
- *Bacillus spp.*



Resultados



3. Perfil lipídico de leche proveniente de vacas con y sin MSC

Tabla 5

Porcentaje de grasa en las muestras de leche positiva y negativa para mastitis

Muestra	Cantidad de leche (g)	Porcentaje de grasa	Muestra	Cantidad de leche (g)	Porcentaje de grasa (g)
157 (-)	3,164	1,0524	200 (+)	3,138	1,142
175 (-)	3,0653	1,142	192 (+)	4,606	1,137
152 (-)	3,0818	1,0319	150 (+)	4,642	1,110
148 (-)	3,0467	1,0940	149 (+)	4,611	1,120
173 (-)	3,0766	1,105	144 (+)	3,108	1,0909
96 (-)	3,129	1,000	199 (+)	4,881	1,0792
178 (-)	3,0313	1,0995	147 (+)	3,240	1,0758
191 (-)	2,568	1,747	185 (+)	4,657	1,118
125 (-)	3,118	1,0171	163 (++)	4,674	1,177
172 (+)	4,624	1,142	133 (++)	4,602	1,171
168 (+)	4,791	1,0747	181 (++)	3,0972	1,179
			103 (++)	4,608	1,215
			187 (+++)	4,575	1,209

Se requirió mayor cantidad de leche para alcanzar un porcentaje de grasa similar al obtenido en las muestras sin MSC.



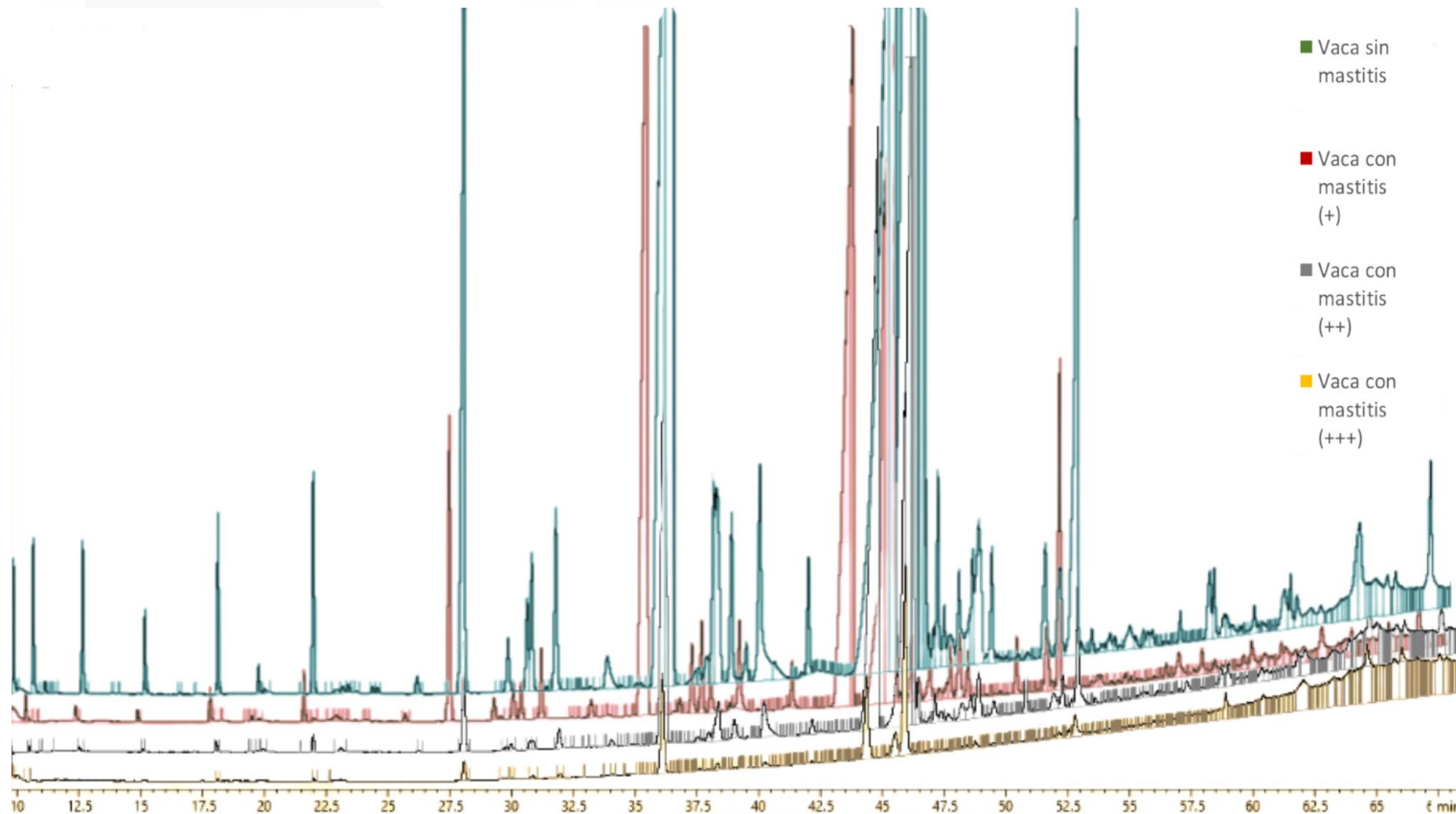
Resultados



3. Perfil lipídico de leche proveniente de vacas con y sin MSC

Figura 9

Cromatogramas de muestras sin la inflamación (-) y con los diferentes grados de mastitis (+, ++ y +++).



Mastitis no se asocia a alteraciones en la síntesis de grasa láctea, no hay alteración en los lípidos totales de la leche (Hunt et al., 2013).



Resultados

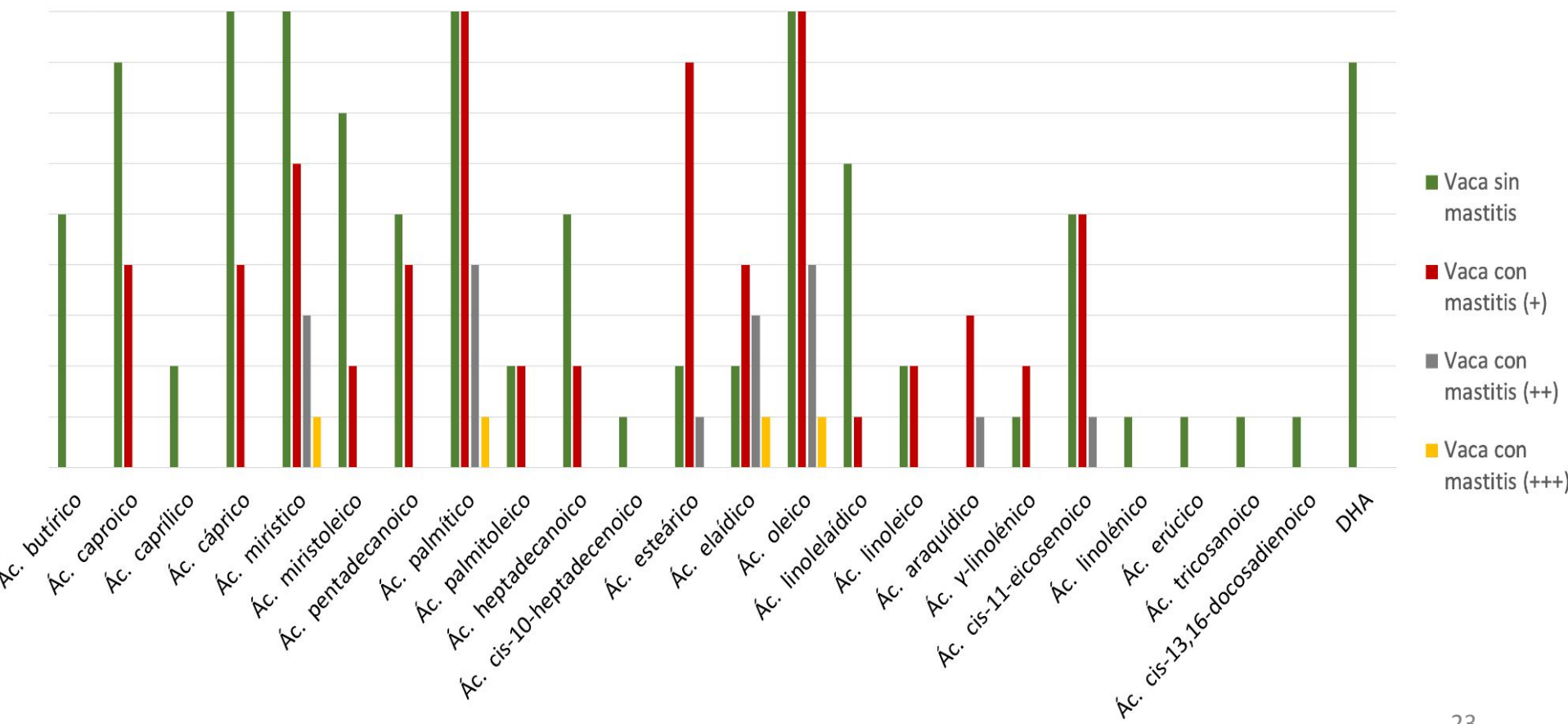


3. Perfil lipídico de leche proveniente de vacas con y sin MSC

Figura 10

Diagrama de barras para comparar el perfil lipídico total entre vacas sanas y enfermas

Ácidos grasos presentes en las unidades experimentales analizadas





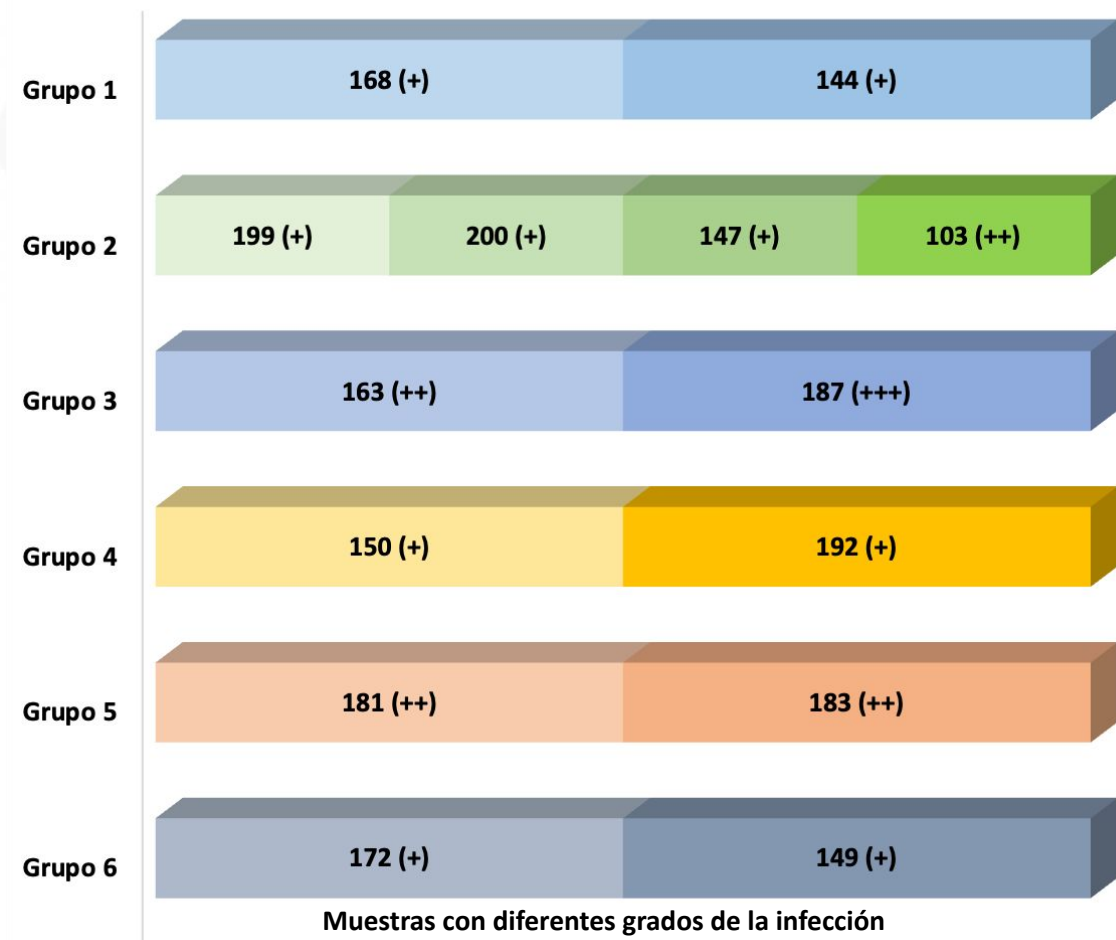
Resultados



3. Perfil lipídico de leche proveniente de vacas con y sin MSC

Figura 11

Agrupaciones de muestras con MSC (+, ++ y +++) de acuerdo con los ácidos grasos que comparten entre ellas.



- 150 y 192 (ác. cis-11-eicosenoico)
- 181 (ác. araquídico) y 133 (ác. cis-11-eicosenoico)
- 172 y 149 (ács. esteárico y araquídico)



Resultados



Variación de la composición lipídica: relacionada con una respuesta inmunológica del organismo, demostrando la **compleja relación** entre la inmunidad, inflamación y el estrés metabólico a raíz de la mastitis (Khan et al., 2024).

- Desequilibrios en los lípidos y estimular la respuesta inmune ante la mastitis, se provocó estrés oxidativo y se activó la señalización del factor nuclear kappa B (NF- κ B) → provoca aumento TNF- α
- Descomposición excesiva de grasas
 - Implicado en la respuesta inmunológica de tipo celular ante el estrés y los antígenos bacterianos.





Resultados

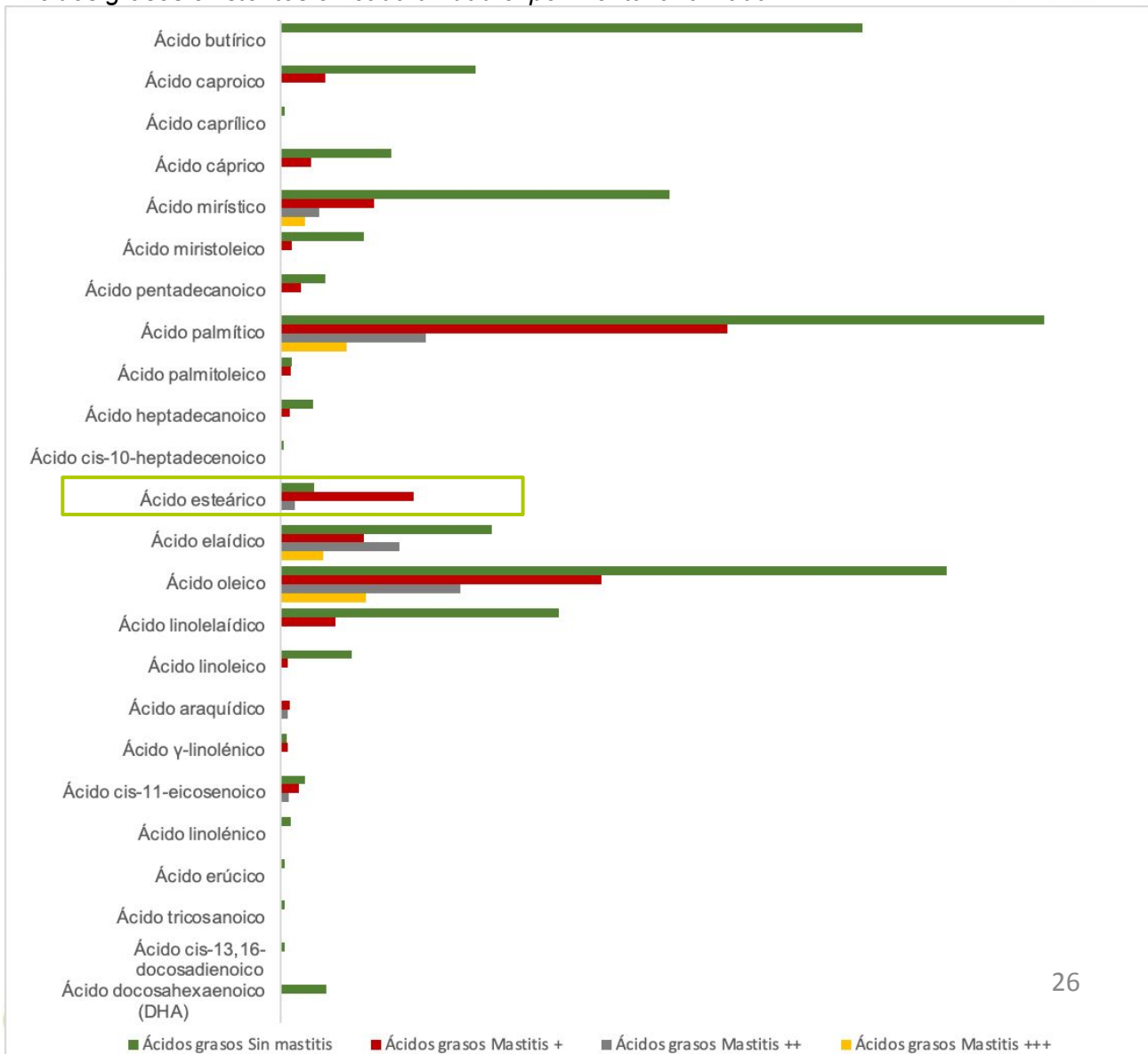


Investigación por Ceciliani et al. (2021): ácido esteárico es mayor en vacas con mastitis.

- Inhibe la respuesta inmune dependiente de células T, reduce capacidad quimiotáctica de monocitos → intercede en la migración de estos a los sitios de inflamación
- Interfiere en el proceso de control del patógeno causante de la enfermedad, prolongándola.

Figura 12

Ácidos grasos existentes en cada unidad experimental analizada



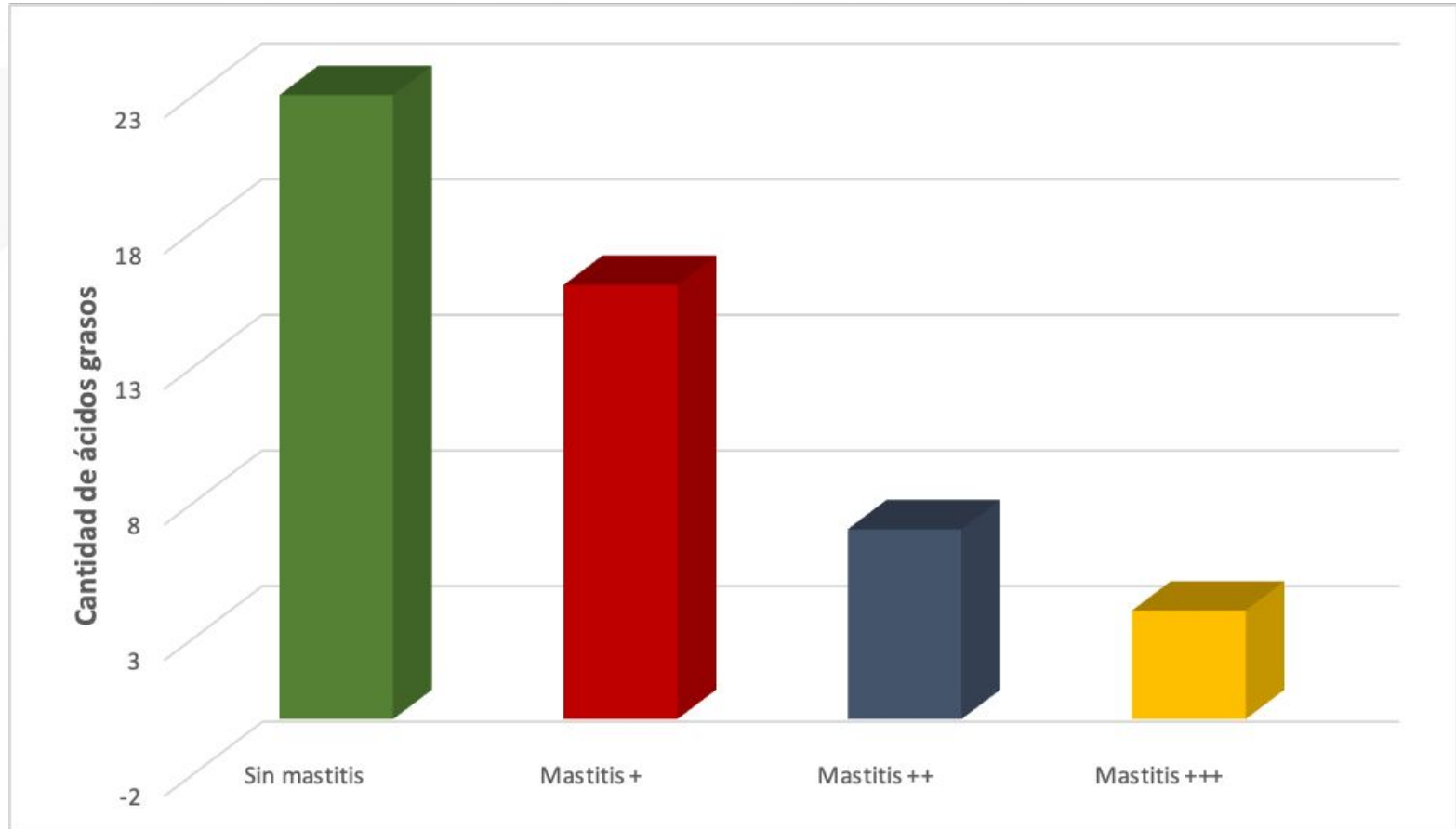


Resultados



Figura 13

Ácidos grasos totales por unidad experimental analizada



→ **Menor cantidad de ácidos grasos** en muestras que atraviesan un **proceso inflamatorio** (Khan et al., 2024).



Conclusiones



Identificación de casos de mastitis

Más de la mitad del ganado presentó mastitis; es necesario aplicar métodos de detección aunque no haya símbolos de la enfermedad.

Identificar agentes causales de mastitis.

Los microorganismos afectan en la salud del animal así como en la calidad de la leche que producen, de forma que es necesario identificar las bacterias para recetar antibióticos y tratar la infección.

Determinar el perfil lipídico de la leche mediante GC-FID

El perfil lipídico de la leche es alterado por la presencia de mastitis, la cantidad y concentración de ácidos grasos que se hallaron en vacas sanas a la de las vacas con la infección.

Conforme es más crítico el grado de mastitis, existió menor cantidad de ácidos grasos en la composición láctea.



Recomendaciones



Se recomienda acoplar un muestreador automático (autosampler) al GC-FID, de forma que se agilice el análisis periódico de las muestras deseadas.

Análisis de la respuesta metabólica de vacas infectadas mediante transcriptómica y proteómica para identificar genes y proteínas que interfieren durante la infección, usando herramientas bioinformáticas para adquirir más información sobre las vías metabólicas que se involucran en la mastitis.

Realizar pruebas *in vivo* con las bacterias aisladas, con el fin de establecer si se repiten los resultados obtenidos en este estudio.



Agradecimientos



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS

INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Dra. Nahir Dugarte
Dr. Armando Reyna Bello
Dra. Sandra Naranjo
Ing. Fausto Bedoya
Ing. Francisco Suasnavas
Laboratorio de Ciencias
Químicas, Microbiología y
Biología Molecular

Familia y Amigos



Referencias



- Ceciliani, F., Audano, M., Addis, M. F., Lecchi, C., Ghaffari, M., Albertini, M., . . . Bronzo, V. (2021). The untargeted lipidomic profile of quarter milk from dairy cows with subclinical intramammary infection by non-aureus staphylococci. *Journal Of Dairy Science*, 104(9), 10268-10281. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19975>.
- Górska, H., Rejman, K., Laskowski, W., & Czczotko, M. (2019). Milk and Dairy Products and Their Nutritional Contribution to the Average Polish Diet. *Nutrients*, 11(8), 1-19.
- Guillen, A. (2020, October 12). *Morfología colonial*. Retrieved from Microbiología: Ensayos de microbiología clínica: <https://dingmicrolab.wordpress.com/2020/10/12/morfologia-colonial/>
- Instituto Nacional de Estadística y Censos. (2021). *Boletín Técnico Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua, 2020*. Quito: INEC.
- Hunt, K. M., Williams, J. E., Shafii, B., Hunt, M. K., Behre, R., Ting, R. C., . . . McGuire, M. A. (2013). Mastitis is associated with increased free fatty acids, somatic cell count, and interleukin-8 concentrations in human milk. *Breastfeeding Medicine*, 8(1), 105-110. <https://doi.org/10.1089/bfm.2011.0141>.
- Khan, M. Z., Huang, B., Kou, X., Chen, Y., Liang, H., Ullah, Q., . . . Wang, C. (2024). Enhancing bovine immune, antioxidant and anti-inflammatory responses with vitamins, rumen-protected amino acids, and trace minerals to prevent periparturient mastitis. *Frontiers in Immunology*, 14, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1290044>.





Referencias



Laboratorios Industriales Farmacéuticos Ecuatoriano (LIFE). (2022, February). *Ficha técnica del CMT*. Retrieved from LIFE:

<https://www.life.com.ec/wp-content/uploads/2022/02/CMT.pdf>

MacFaddin, J. (2000). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica (3. ed). *Ed. Médica Panamericana*.

Moneeb, A., Hammam, A., Ahmed, A., Ahmed, M., & Alsaleem, K. (2021). Effect of fat extraction methods on the fatty acids composition of bovine milk using gas chromatography. *Food Science and Nutrition*, 9(6), 2936-2942.

<https://doi.org/10.1002/fsn3.2252> .

Pereira, P., & Vicente, F. (2017). Chapter 13 - Milk Nutritive Role and Potential Benefits in Human Health. In R. Watson, R. Collier, & V. Preedy, *Nutrients in Dairy and Their Implications for Health and Disease* (pp. 161-176.

<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809762-5.00013-9>). Cambridge: Academic Press.

Rai, S., Yadav, U. N., Pant, N. D., Yakha, J. K., Tripathi, P. P., Poudel, A., & Lekhak, B. (2017). Bacteriological Profile and Antimicrobial Susceptibility Patterns of Bacteria Isolated from Pus/Wound Swab Samples from Children Attending a Tertiary Care Hospital in Kathmandu, Nepal. . *International Journal Of Microbiology*, 1-5.

<https://doi.org/10.1155/2017/2529085>.



Referencias



- Ramírez, S. (2016, Febrero 28). *La industria produce más y vende menos*. Retrieved from Revista Líderes: <https://www.revistalideres.ec/lideres/crecimiento-produccion-disminucion-ventas-ecuador.html>
- Schadt, I. (2023). Health concerns about possible long-term effects of legally marketed milk and dairy from animals with intramammary infections. *Frontiers in Public Health*, 11, <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1200924>.
- Hunt, K. M., Williams, J. E., Shafii, B., Hunt, M. K., Behre, R., Ting, R. C., McGuire, M. K., & McGuire, M. A. (2013). Mastitis is associated with increased free fatty acids, somatic cell count, and interleukin-8 concentrations in human milk. *Breastfeeding Medicine*, 8(1), 105-110. <https://doi.org/10.1089/bfm.2011.0141>
- Khan, M. Z., Huang, B., Kou, X., Chen, Y., Liang, H., Ullah, Q., Khan, I. M., Khan, A., Chai, W., & Wang, C. (2024). Enhancing bovine immune, antioxidant and anti-inflammatory responses with vitamins, rumen-protected amino acids, and trace minerals to prevent periparturient mastitis. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1290044>
- Peng, C., Ouyang, Y., Lü, N., & Li, N. (2020). The NF-KB signaling pathway, the microbiota, and gastrointestinal tumorigenesis: recent advances. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01387>
- Xu, E., Chen, C., Fu, J., Zhu, L., Shu, J., Jin, M., Wang, Y., & Zong, X. (2021). Dietary fatty acids in gut health: absorption, metabolism and function. *Animal Nutrition*, 7(4), 1337-1344. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.09.010>





3.3. Parámetros para cromatógrafo Chromatec Crystal 9000

Proporciona una alta eficiencia durante la **separación de compuestos volátiles.**

- Identificar basándose en la polaridad y puntos de ebullición.

Carrier: helio

Auxiliares: hidrógeno y aire ultrapuro

•Inyector:

240°C

•Columna:

Velocidad constante a 21.000 cm/s a 60 minutos, con presión de 252.302 kPa y flujo capilar de 1.346 mL/min.

T° post run a 240°C.

•Horno:

60°C por 1 minuto.

Subir a 145 °C en una rampa de 8°C/min por 15 minutos.

Rampa final de 2°C/min hasta llegar a 220 °C en 10 minutos.

T° post run a 200°C.



•FID:

250°C.

•Flujos:

Helio 25 mL/min

Hidrógeno 25 mL/min

Aire 250 mL/min.



Anexos



Ácidos grasos existentes en las muestras de leche positiva y negativa para mastitis

Ácidos grasos	Grado de mastitis			
	(-)	(+)	(++)	(+++)
Ácido butírico	152, 148, 178, 191, 125	*	*	*
Ácido caproico	157, 175, 152, 148, 96, 178, 191, 125	172, 192, 150, 149	*	*
Ácido caprílico	157, 152	*	*	*
Ácido cáprico	157, 175, 152, 148, 173, 96, 178, 191, 125	172, 192, 150, 149	*	*
Ácido mirístico	157, 175, 152, 148, 173, 96, 178, 191, 125	172, 168, 192, 150, 149, 144	163, 133, 181	187
Ácido miristoleico	157, 175, 152, 148, 96, 178, 125	172, 149	*	*
Ácido pentadecanoico	175, 152, 148, 96, 125	172, 192, 150, 149	*	*
Ácido palmítico	157, 175, 152, 148, 173, 96, 178, 191, 125	172, 168, 200, 192, 150, 149, 144, 199, 147	163, 133, 181, 103	187
Ácido palmitoleico	152, 191	192, 150	*	*
Ácido heptadecanoico	157, 152, 173, 178, 191, 125	192, 150	*	*
Ácido cis-10-heptadecenoico	125	*	*	*

Ácidos grasos	Grado de mastitis			
	(-)	(+)	(++)	(+++)
Ácido esteárico	152, 96	168, 200, 192, 150, 149, 144, 199, 147	103	*
Ácido elaidico	157, 96	172, 168, 149, 144	163, 133, 181	187
Ácido oleico	157, 175, 152, 148, 173, 96, 178, 191, 125	172, 168, 200, 192, 150, 149, 144, 199, 147	163, 133, 181, 103	187
Ácido linolelaídico	157, 175, 152, 173, 191, 125	172	*	*
Ácido linoleico	157, 152	192, 150	*	*
Ácido araquídico	*	192, 150, 149	181	*
Ácido γ-linolénico	178	192, 150	*	*
Ácido cis-11-eicosenoico	175, 152, 96, 178, 125	172, 168, 192, 149, 144	133	*
Ácido linolénico	173	*	*	*
Ácido erúcido	148	*	*	*
Ácido tricosanoico	148	*	*	*
Ácido cis-13,16-docosadienoico	152	*	*	*
DHA	157, 175, 152, 148, 173, 178, 191, 125	*	*	*



Anexos



Porcentaje de ácido graso en la grasa de leche proveniente de vacas sin mastitis

Ácidos grasos	Muestras								
	157	175	152	148	173	96	178	191	125
Ácido butírico	0,00	0,00	12,27	15,55	0,00	0,00	33,88	9,56	24,92
Ácido caproico	2,14	1,92	3,28	5,86	0,00	1,42	8,35	2,83	6,44
Ácido caprílico	0,25	0,00	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ácido cáprico	1,72	1,37	1,53	4,13	1,35	0,96	3,32	1,33	2,59
Ácido mirístico	6,29	4,97	6,42	18,52	0,69	3,27	11,56	4,35	8,19
Ácido miristoleico	3,20	1,47	2,53	1,65	0,00	0,67	1,88	0,00	2,26
Ácido pentadecanoico	0,00	1,02	1,35	3,03	0,00	0,76	0,00	0,00	1,22
Ácido palmítico	3,17	15,98	17,03	2,61	11,67	11,74	17,17	18,94	27,92
Ácido palmitoleico	0,00	0,00	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00	1,34	0,00
Ácido heptadecanoico	0,86	0,00	0,77	0,00	0,75	0,00	1,62	0,59	0,73
Ácido cis-10-heptadecenoico	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39
Ácido esteárico	0,00	0,00	0,86	0,00	0,00	4,55	0,00	0,00	0,00
Ácido eláídico	31,43	0,00	0,00	0,00	0,00	3,44	0,00	0,00	0,00
Ácido oleico	31,33	10,36	15,38	1,52	3,87	12,55	1,02	11,94	22,14
Ácido linolelaídico	3,88	5,73	7,74	0,00	14,18	0,00	0,00	10,86	3,52
Ácido linoleico	11,06	0,00	0,62	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ácido araquídico	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,91	0,00	0,00
Ácido γ-linolénico	0,00	0,83	0,70	0,00	0,00	0,84	0,64	0,00	0,92
Ácido cis-11-eicosenoico	0,00	0,00	0,00	0,00	1,62	0,00	0,00	0,00	0,00
Ácido linolénico	0,00	0,00	0,00	0,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ácido erúcico	0,00	0,00	0,00	0,55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ácido tricosanoico	0,00	0,00	0,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ácido cis-13,16-docosadienoico	0,86	0,89	0,96	0,88	0,89	0,00	1,06	0,96	1,03
DHA	0,00	0,00	12,27	15,55	0,00	0,00	33,88	9,56	24,92



Anexos



Porcentaje de ácido graso en la grasa de leche proveniente de vacas con mastitis (+)

Ácidos grasos	Muestras										
	172	168	200	192	150	149	144	199	147	185	
Ác. caproico	1,74	0,00	0,00	2,70	1,59	2,15	0,00	0,00	0,00	0,00	
Ác. cáprico	1,49	0,00	0,00	1,65	0,95	1,34	0,00	0,00	0,00	0,00	
Ác. mirístico	3,44	0,85	0,00	4,74	3,18	4,10	0,70	0,00	0,00	0,00	
Ác. miristoleico	1,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,70	0,00	0,00	0,00	0,00	
Ác. pentadecanoico	1,06	0,00	0,00	1,06	0,77	0,80	0,00	0,00	0,00	0,00	
Ác. palmítico	11,82	2,37	1,46	14,22	12,38	35,98	2,09	1,00	0,61	0,00	
Ác. palmitoleico	0,00	0,00	0,00	1,09	0,79	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
Ác. heptadecanoico	0,00	0,00	0,00	0,85	0,69	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
Ác. esteárico	0,00	1,84	1,17	4,32	6,48	7,27	1,54	1,05	0,77	0,00	
Ác. elaidico	10,33	0,65	0,00	0,00	0,00	3,68	0,57	0,00	0,00	0,00	
Ác. oleico	5,73	2,80	1,63	17,06	16,66	9,87	2,89	1,47	0,78	0,00	
Ác. linolelaídico	10,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
Ác. linoleico	0,00	0,00	0,00	0,60	0,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
Ác. araquídico	0,00	0,00	0,00	0,49	0,48	0,55	0,00	0,00	0,00	0,00	
Ác. γ-linolénico	0,00	0,00	0,00	0,64	0,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
Ác. cis-11-eicosenoico	0,73	0,52	0,00	0,80	0,00	0,72	0,51	0,00	0,00	0,00	
Ácidos grasos totales (por grupo)											16

Porcentaje de ácido graso en la grasa de leche proveniente de vacas con mastitis (++) y (+++).

Ácidos grasos	Muestras con ++				Muestra con +++
	163	133	181	103	187
Ác. mirístico	0,47	1,55	0,76	0,00	0,45
Ác. palmítico	1,33	7,00	1,32	1,02	1,20
Ác. esteárico	0,00	0,00	0,00	1,01	0,00
Ác. elaidico	1,31	6,48	0,88	0,00	0,78
Ác. oleico	1,81	9,04	0,87	1,46	1,55
Ác. araquídico	0,00	0,00	0,48	0,00	0,00
Ác. cis-11-eicosenoico	0,00	0,60	0,00	0,00	0,00
Ácidos grasos totales (por grupo)	7				4





Anexos



Ácidos grasos compartidos entre las unidades experimentales agrupadas

	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	Grupo E	Grupo F			
Componente	168 (+), 144 (+)	200 (+), 199 (+), 147 (+), 103 (++)	163 (++) , 187 (+++)	133 (++)	181 (++)	192 (+)	150 (+)	172 (+)	149 (+)
Ácido caproico									
Ácido cáprico									
Ácido mirístico									
Ácido miristoleico									
Ácido pentadecanoico									
Ácido palmítico									
Ácido palmitoleico									
Ácido heptadecanoico									
Ácido esteárico									
Ácido elaídico									
Ácido oleico									
Ácido linolelaídico									
Ácido linoleico									
Ácido araquídico									
Ácido γ-linolénico									
Ácido cis-11-eicosenoico									





Anexos



Ácidos grasos	Muestras																							
	Sin mastitis						Con mastitis																	
							(+)									(++)				(+++)				
	157	175	152	148	173	96	178	191	125	172	168	200	192	150	149	144	199	147	185	163	133	181	103	187
Ácido butírico	0	0	0.12	0.16	0	0	0.34	0.096	0.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ácido caproico	0.021	0.019	0.033	0.059	0	0.014	0.084	0.028	0.064	0.017	0	0	0.027	0.016	0.021	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ácido caprílico	0.024	0	0.0040	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ácido cáprico	0.017	0.014	0.015	0.041	0.014	0.0096	0.033	0.013	0.026	0.015	0	0	0.017	0.0095	0.013	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ácido mirístico	0.063	0.050	0.064	0.19	0.0070	0.033	0.12	0.043	0.082	0.034	0.0085	0	0.047	0.032	0.041	0.0070	0	0	0	0.0047	0.016	0.0076	0	0.0045
Ácido miristoleico	0.032	0.015	0.025	0.017	0	0.0067	0.019	0	0.023	0.012	0	0	0	0	0.0070	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ácido pentadecanoico	0	0.010	0.014	0.030	0	0.0076	0	0	0.012	0.011	0	0	0.011	0.0076	0.0080	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ácido palmítico	0.032	0.16	0.17	0.026	0.12	0.12	0.17	0.19	0.28	0.12	0.024	0.015	0.14	0.12	0.36	0.021	0.010	0.0061	0	0.0133	0.070	0.013	0.010	0.012
Ácido palmítoleico	0	0	0.0046	0	0	0	0	0.013	0	0	0	0	0.011	0.0079	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ácido heptadecanoico	0.086	0	0.0077	0	0.0075	0	0.016	0.0059	0.0073	0	0	0	0.0085	0.0069	0	0	0	0	0	0	0	0	0	





Anexos



Ácidos grasos	Muestras																						
	Sin mastitis						Con mastitis																
							(+)							(++)				(+++)					
157	175	152	148	173	96	178	191	125	172	168	200	192	150	149	144	199	147	185	163	133	181	103	187
Ácido cis-10-heptadecenoico	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0039	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ácido esteárico	0	0	0.0086	0	0	0.046	0	0	0	0	0.018	0.012	0.043	0.065	0.073	0.015	0.011	0.0077	0	0	0	0	0.010
Ácido eláidico	0.31	0	0	0	0	0.034	0	0	0	0.10	0.0065	0	0	0	0.037	0.0057	0	0	0	0.013	0.065	0.0088	0.0078
Ácido oleico	0.31	0.10	0.15	0.015	0.039	0.13	0.010	0.12	0.22	0.057	0.028	0.016	0.17	0.17	0.099	0.029	0.015	0.0078	0	0.018	0.090	0.0087	0.015
Ácido linoleláidico	0.039	0.057	0.077	0	0.14	0	0	0.11	0.035	0.10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ácido linoleico	0.11	0	0.0061	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0060	0.0054	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ácido araquídico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0049	0.0048	0.0054	0	0	0	0	0	0	0.0048	0
Ácido γ-linolénico	0	0	0	0	0	0	0.0091	0	0	0	0	0	0.0064	0.0057	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ácido cis-11-eicosenoico	0	0.0083	0.0070	0	0	0.0084	0.0064	0	0.0092	0.0073	0.0052	0	0.0080	0	0.0072	0.0051	0	0	0	0	0.0060	0	0
Ácido linolénico	0	0	0	0	0.016	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ácido erúcico	0	0	0	0.0061	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ácido tricosanoico	0	0	0	0.0055	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ácido cis-13,16-docosadienoico	0	0	0.0052	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ácido docosahexaenoico (DHA)	0.0086	0.0088	0.0096	0.0088	0.0089	0	0.011	0.0096	0.010	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Nota. Los números representan la concentración en g de ácido graso en g de grasa de la leche analizada.