



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

**PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E  
CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO LINOLÉICO  
CONJUGADO (CLA) NA GORDURA DO  
LEITE DE VACAS ALIMENTADAS COM  
DIFERENTES FONTES DE LIPÍDEOS**

**SILVIO LUIZ DE OLIVERIA SOGLIA**

2003

55556  
MF 042419

**SILVIO LUIZ DE OLIVEIRA SOGLIA**

**PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO  
LINOLÉICO CONJUGADO (CLA) NA GORDURA DO LEITE DE  
VACAS ALIMENTADAS COM DIFERENTES FONTES DE LIPÍDEOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação "Stricto Sensu" em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de "Doutor".

**Orientador**

**Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu**

**LAVRAS  
MINAS GERAIS - B  
2003**

**Ficha catalográfica preparada pela divisão de processos técnicos da  
biblioteca central da UFLA**

Soglia, Silvio Luiz de Oliveira

Perfil de ácidos graxos e concentração de ácido linoléico conjugado  
(CLA) na gordura do leite de vacas alimentadas com diferentes fontes de  
lipídeos/ Soglia, Silvio Luiz de Oliveira -Lavras: UFLA, 2003.

75 p.:il.

Orientador: Luiz Ronaldo de Abreu

Tese (Doutorado) - UFLA

Bibliografia

1. Ácido linoléico conjugado. 2. CLA. 3. Perfil de ácidos graxos. 4. Soja  
5. Gordura do leite. 6. Caroço de algodão 7. Nutrição animal I. Universidade  
Federal de Lavras. II Título.

CDD-576.163  
-641.3

**SILVIO LUIZ DE OLIVEIRA SOGLIA**

**PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO  
LINOLÉICO CONJUGADO (CLA) NA GORDURA DO LEITE DE  
VACAS ALIMENTADAS COM DIFERENTES FONTES DE LIPÍDEOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação "Stricto Sensu" em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de "Doutor".

**APROVADA em 14 de fevereiro de 2003**

**Prof. Dr. Júlio César Teixeira**

**UFLA**

*Cadastre*

**Prof. Dr.ª Maria de Fátima Piccolo Barcelos**

**UFLA**

**Prof. Dr. Fernando Antônio Resplande Magalhães**

**EPAMIG**

**Dr.ª Sandra Maria Pinto**

**EMBRAPA/CNPq**

*Outro Participante*

  
**Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu UFLA**  
**(Orientador)**

**LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL**

ALJONIA ADMINISTRATIVE REPORT

THE ALJONIA INSTITUTION HAS BEEN ADVISED BY THE STATE DEPARTMENT OF HEALTH THAT THE FOLLOWING INDIVIDUALS ARE SUBJECTS OF A CURRENT INVESTIGATION:

NAME  
ADDRESS  
CITY

IT IS REQUESTED THAT YOU KEEP THE FOLLOWING INDIVIDUALS UNDER CLOSE SURVEILLANCE AND REPORT ANY CHANGES IN THEIR STATUS TO THE ALJONIA INSTITUTION IMMEDIATELY.

Very truly yours,  
Director

NAME	ADDRESS	CITY

ALJONIA INSTITUTION  
 1000 WEST 10TH AVENUE  
 ANN ARBOR, MICHIGAN 48106  
 TEL. 764-1100

*...Perdoemos as pedras da vida pelo ouro de experiência e de luz que nos oferecem.*

*E, sobretudo armemo-nos de coragem para o trabalho, porque é na dor do presente que corrigimos as lutas de ontem, acendendo abençoada luz para o nosso grande porvir.*

*Bezerra de Menezes*

*Á toda minha família, em especial aos meus irmãos, ao meu pai "in memoriam" e à minha mãe pelo esforço na condução dos meus estudos.*

*Á minha querida companheira Conça e aos meus filhos Vinicius e Daniel, a razão e inspiração da minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

À Escola de Agronomia da Universidade Federal da Bahia, pela oportunidade concedida.

À Universidade Federal de Lavras por meio do departamento de Ciência dos Alimentos, pelo acolhimento e pela contribuição à minha formação acadêmica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Agradecemos a Newton Paiva Empreendimentos Rurais pela permissão e total apoio na condução do experimento na Fazenda Vista Alegre.

Ao professor Luiz Ronaldo de Abreu, pela orientação e convivência sincera e amiga.

Aos professores Júlio César Teixeira e Maria de Fátima Piccolo Barcelos pelas sugestões apresentadas.

Ao amigo Dr. Fernando Magalhães pela partilha das nossas trajetórias e participação na banca examinadora.

A Dra Sandra Maria Pinto pela amizade e colaboração.

Ao amigo Valfrêdo Garcia pela condução da parte Zootécnica desse experimento.

À professora Fabiana Ribeiro pelos ensinamentos e assistência nas análises cromatográficas.

Ao amigo Rogério Amaro pelo importante auxílio na avaliação estatística dos dados

A Cleuza pela grande ajuda e indispensável bom humor na rotina de trabalho no laboratório.

À Alessandra e Rodrigo pela enorme colaboração na realização das análises laboratoriais.

**Ao professor e amigo Luiz Carlos Gonçalves Costa pelo exemplo de perseverância e pela sua confiança e amizade.**

**Aos companheiros de curso Alberto, Maria Marlucia, Marta e Antonio, Pedro Henrique, Beto, Herbert, Eduardo Garcia e Patrícia Rodrigues.**

**Aos funcionários do DCA pela convivência e pelo apoio, em especial a Gicelda, Luciana, Sr. Miguel, Tina, Sandra, Mércia e Sr. Piano.**

**Enfim, a todos que colaboraram para realização deste trabalho.**

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO .....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Considerações iniciais.....	3
2.2 Fontes de lipídeos para suplementação de vacas leiteiras.....	4
2.3 Limitações no uso de lipídeos na dieta de vacas leiteiras.....	8
2.4 Metabolismo dos lipídeos em ruminantes.....	10
2.4.1 Metabolismo de ácidos graxos voláteis.....	11
2.4.2 Metabolismo de ácidos graxos de cadeia longa.....	12
2.4.3 Síntese de gordura na glândula mamária.....	14
2.5 A gordura do leite.....	16
2.6 Efeito da suplementação com lipídeos no perfil dos ácidos graxos da gordura do leite.....	17
2.7 Efeito da suplementação das dietas com lipídeos no teor de CLA no leite.....	22
2.8 Lipídeos no leite e saúde do consumidor.....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1 Local e grupo de animais.....	32
3.2 Dietas experimentais (tratamentos).....	32
3.3 Períodos experimentais e coleta de amostras.....	35
3.4 Análise do perfil dos ácidos graxos da gordura do leite.....	35
3.4.1 Extração da gordura.....	36
3.4.2 Obtenção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos.....	36

3.4.3 Análises cromatográficas.....	37
3.5 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
4.1 A gordura do leite.....	41
4.2 Perfil dos ácidos graxos da gordura do leite.....	41
4.2.1 Ácidos graxos de cadeia curta (C <sub>4</sub> a C <sub>12</sub> ).....	45
4.2.2 Ácidos graxos de cadeia média (C <sub>13</sub> a C <sub>16</sub> ).....	48
4.2.3 Ácidos graxos de cadeia longa (C <sub>18</sub> a C <sub>20</sub> ).....	49
4.2.4 Ácidos graxos de cadeia saturada e insaturada.....	51
4.2.5 Ácidos graxos de cadeia monoinsaturada e poliinsaturada.....	54
4.3 Efeito dos tratamentos sobre o conteúdo de ácido linoléico conjugado CLA da gordura do leite.....	56
5 CONCLUSÕES.....	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
ANEXOS.....	70

## RESUMO

SOGLIA, Silvio Luiz de Oliveira. **Perfil de ácidos graxos e concentração de Ácido Linoléico Conjugado (CLA) na gordura do leite de vacas alimentadas com diferentes fontes de lipídeos**: UFLA, 2003. 75p. (Tese - Doutorado em Ciência de Alimentos)

O presente trabalho estudou os efeitos do consumo de diferentes formas físicas de soja em grão e caroço de algodão por vacas leiteiras sobre o perfil de ácidos graxos da gordura do leite, incluindo o teor de CLA. O experimento foi conduzido na Fazenda Vista Alegre, município de Curvelo-MG. Foram selecionadas 32 vacas da raça holandesa, múltiparas, em lactação, com produção média de 18 kg/dia de leite e média de 90 dias em lactação. As dietas experimentais que constituíram os tratamentos foram: 1) soja em grão inteiro (SGI); 2) soja em grão moído (SGM); 3) caroço de algodão inteiro (CAI) e 4) caroço de algodão moído (CAM). Todas as fontes de gordura foram previamente submetidas a tratamento térmico. As rações concentradas foram balanceadas segundo as exigências estabelecidas pelo National Research Council-NRC (2001), e apresentaram o mesmo nível de FDN, FDA, Energia, Proteína bruta, cálcio e fósforo. O ensaio foi conduzido em sistema rotacional “change-over” com delineamento em quadrado latino, com oito quadrados latinos 4x4, sendo quatro períodos e quatro animais, agrupados por produção e ordem de lactação. Foi realizada análise de variância e teste F, comparando-se as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. O processo de moagem realizado nos grãos não alterou o conteúdo total dos ácidos graxos de cadeia curta e média na gordura do leite, entretanto, promoveu maior média ( $p < 0,01$ ) na soma dos ácidos graxos de cadeia longa e insaturada com redução nos ácidos graxos saturados. As dietas contendo soja em grão apresentaram maiores médias ( $p < 0,01$ ) para o conteúdo de ácidos graxos de cadeia longa e poliinsaturada em relação às dietas com caroço de algodão e menores para o total de ácidos graxos de cadeia média independente da forma física. Houve um incremento no conteúdo de CLA quando vacas foram alimentadas com dietas contendo grãos moídos tanto para a soja (37,36%) como para o algodão (22,9%).

---

Comitê Orientador: Luiz Ronaldo de Abreu (orientador) – UFLA, Júlio César Teixeira – UFLA.

## ABSTRACT

**SOGLIA, Silvio Luiz de Oliveira. Fatty acids profile and conjugated linoleic acid (CLA) concentration in fat milk from cows fed different lipid sources. LAVRAS: UFLA, 2003. 75p. (Thesis – Doctorate in Food Science)\***

The objective of the study was to determine the effects of different physical forms of soybeans and cottonseeds on the fatty acid profile milk fat, include the concentration of CLA. The experiment was conducted in the Vista Alegre farm in Curvelo, Minas Gerais-Brazil. Thirty-two multiparous Holstein cows were selected, with average milk production 18 L/day in midlactation (mean 90 days). Treatments included 1) whole soybean, 2) ground soybean, 3) whole cottonseed and 4) ground cottonseed. All the lipid sources were roasted. Diets were balanced and formulated according to NRC recommendations, and presented same level of neutral detergent fiber, acid detergent fiber, energy, crude protein, calcium and phosphorus. The trial was conducted in rotational system (change over) in a 4x4 Latin square design with 8 Latin square, four periods and four animals grouped according to milk yield and stage of lactation. Data were subjected to ANOVA by SISVAR analyses system. Tukey test were used to compare the treatments means. Grinding didn't alter ( $p>0,05$ ) the content of short and medium chain fatty acids in fat milk, however increased ( $p<0,01$ ) the percentage long chain fatty acids and unsaturated with reduction of the saturated ones. Diets containing soybean presented high means ( $p<0,01$ ) for long chain and polyunsaturated content fatty acids compared to diets with cottonseeds and lower values to chain fatty acids, independent of the physical form. There was an increment of CLA content for cows fed diets containing ground beans for both soybean (37.36%) and cottonseed (22.9%)

---

Committee Guidance: Luiz Ronaldo de Abreu (Adviser) – UFLA, Júlio César Teixeira – UFLA.

# 1 INTRODUÇÃO

Os componentes naturais do leite podem sofrer modificações que interferem na sua qualidade intrínseca, gerando muitas vezes uma variabilidade na composição deste produto.

Dentre os diversos fatores associados com a modificação da composição do leite, a alimentação do animal tem recebido atualmente uma atenção especial por parte dos pesquisadores, devido a sua facilidade de intervenção e rapidez na obtenção dos resultados. A manipulação dietética de vacas leiteiras tem focalizado recentemente alguns aspectos importantes para a indústria de laticínios que se constituem nos seguintes desafios: produção de leite com menor teor de gordura, aumentando o seu grau de insaturação, com incremento na concentração de ácidos graxos poliinsaturados, em particular o ácido linoleico conjugado (CLA), preservando os ácidos voláteis de cadeia curta responsável pelo aroma dos produtos lácteos, mantendo ou até mesmo aumentando o nível de produção de leite.

Algumas tentativas têm sido feitas pela indústria de laticínios para reduzir os níveis de ácidos graxos saturados em produtos lácteos. Isto inclui o desenvolvimento de produtos com baixo teor de gordura (light) ou isentos desta e a emergência de novas tecnologias para modificar ácidos graxos nesses alimentos. Embora, o desenvolvimento desses produtos tenha sido extensivamente pesquisado, o efeito da quantidade e tipo de lipídeo adicionado na ração de vacas leiteiras sobre os ácidos graxos e colesterol do leite não tem sido totalmente determinado.

A suplementação através de fontes de sementes de oleaginosas na dieta de vacas leiteiras pode ser uma alternativa bastante interessante para essa situação. As sementes de oleaginosas contém de 15 a 35% de lipídeos, que

apesar de altamente insaturados, apresentam como vantagem sua liberação lenta no rúmen à medida que vão sendo degradados pelos microrganismos. São interessantes também por associarem uma boa fonte de proteína (Palmquist, 1991; Butolo, 1993).

Há muito se sabe, e os estudos comprovam, que os grãos de soja e o caroço de algodão se constituem numa ótima fonte protéica e energética para ruminantes, reduzindo inclusive os custos da alimentação. A forma na qual o óleo dessas sementes chega até o rúmen pode ter um efeito sobre a composição de ácidos graxos da gordura do leite. O maior ou menor grau de proteção dos ácidos graxos ao processo de biohidrogenação no rúmen modifica de forma substancial o perfil de ácidos graxos da gordura do leite. O fornecimento na forma de sementes intactas elimina em parte as limitações do uso de lipídeos na maioria dos programas de alimentação de ruminantes, por estarem na forma naturalmente protegida escapando, pelo menos parcialmente, do ataque de microrganismos do rúmen, embora sejam degradados e absorvidos no intestino delgado.

Tendo em vista a importância da utilização de fontes suplementares de lipídeos nas dietas de ruminantes e as modificações que esta prática pode exercer sobre a composição do leite, os objetivos desse trabalho foram: estudar os efeitos da suplementação com diferentes formas físicas de soja em grão e caroço de algodão sobre o perfil de ácidos graxos da gordura do leite; verificar o impacto do fornecimento destes óleos sobre grupo de ácidos graxos nutricionalmente importantes na gordura do leite e determinar a influencia das fontes de lipídeos sobre o teor de Ácido Linoléico Conjugado (CLA) do leite.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Considerações iniciais

Logo após o parto, vacas leiteiras de alta produção demandam grandes quantidades de nutrientes para a síntese do leite. Um elevado consumo de alimentos de boa qualidade e de alta densidade energética é necessário para suprir essa demanda. Contudo, é justamente neste momento de maior necessidade que a vaca apresenta menor consumo de matéria seca, devido a modificações hormonais, o que faz com que os requerimentos de energia líquida sejam superiores aos de consumo, induzindo as vacas à mobilização de reservas corporais, particularmente depósitos de gordura, o que reflete na perda de peso pelos animais, com influência negativa direta sobre o retorno do animal ao ciclo reprodutivo. Esta demanda energética tem sido suprida com aumento no fornecimento de alimentos concentrados. No entanto, a utilização de altos níveis de concentrados para vacas no início de lactação, tem sido associado com diversos problemas entre eles a redução da digestibilidade da fibra dietética, redução do consumo de matéria seca, acidose ruminal e diminuição do teor de gordura do leite.

A suplementação de lipídeos em dietas de vacas em início de lactação tem sido uma alternativa estratégica para aumentar a densidade energética da dieta, evitando o fornecimento excessivo de grãos de cereais e suas indesejáveis conseqüências. A inclusão de lipídeos (5 a 7% da matéria seca) nas dietas é muito comum, especialmente na forma de sementes oleaginosas, como os grãos de soja e o caroço de algodão. Isto na maioria dos casos resulta em aumento do volume de produção, porém com freqüentes e variáveis modificações na composição do leite (Peres, 2001).

O leite é sintetizado a partir de nutrientes fornecidos para as células secretoras da glândula mamária pelo sangue. Estes nutrientes são oriundos diretamente do alimento fornecido aos animais ou após sofrerem modificações nos tecidos corporais antes de alcançar a glândula mamária. Os processos metabólicos que regulam a composição do leite e sua produção são controlados pela quantidade e perfil dos nutrientes absorvidos, mediados por hormônios de maneira complexa e interativa. Dessa forma, a composição da dieta tem um impacto direto na composição do leite. Segundo Kennelly et al. (1999), o teor de gordura e sua composição em ácidos graxos são mais fáceis de serem modificados, sendo o teor de lactose, menos sujeito a alterações dietéticas, enquanto o teor de proteína se situa em posição intermediária, quanto à possibilidade de manipulação por meio da alimentação. Especial atenção tem sido dada aos estudos de modificações ocorridas nas frações de gordura e proteína do leite, devido ao fato desses influenciarem diretamente o seu valor nutritivo e rendimento industrial.

## **2.2 Fontes de lipídeos para suplementação de vacas leiteiras**

De acordo com Palmquist (1989), as fontes de lipídeos comerciais destinados à suplementação de vacas leiteiras podem ser divididas basicamente em três categorias: sementes inteiras de oleaginosas (soja, girassol, algodão, canola etc.) óleos e gorduras livres (óleos vegetais, sebo e misturas de gordura animal e vegetal) e gorduras especiais “protegidas” (sais de cálcio de ácidos graxos).

No Brasil, várias fontes de lipídeos foram ou estão sendo objeto de estudos que são relatados nos diversos trabalhos de pesquisas encontrados (Meirelles, 1992; Delgado, 1994; Malafaia, 1995; Santos, 1999; Pinto, 1997; Medeiros, 2002), dentre elas pode-se citar: óleo de soja, caroço de algodão,

semente de soja crua ou extrusada, semente de linhaça e complexo ácido graxo cálcio (Megalac, Magnapac, sais de cálcio de CLA).

O fornecimento de sementes de soja e de algodão, apesar de conterem alto teor de ácidos graxos insaturados, apresenta poucos riscos à saúde ruminal se respeitados os limites de uso. A razão disto é que o óleo consumido pelo animal tem sua taxa de degradação reduzida por estar contido na semente.

Talvez muitos ainda têm restrições quanto ao uso dessas sementes em virtude da presença de fatores antinutricionais, inibidores de enzimas ou substâncias de efeito tóxico quando fornecidas cruas. A soja, por exemplo, possui um fator antitripsínico, que inibe a ação da enzima tripsina, além da lipase, que pode contribuir para a rancificação de seu óleo e também de uréase que, em contato com a uréia, a converte em amônia, liberando um odor característico. O caroço de algodão possui o gossipol, um composto polifenólico presente nas glândulas de pigmentos da semente. O gossipol existe nas formas "livre" e "ligada". A forma "livre" pode ser tóxica, e atua reduzindo a capacidade de transporte de oxigênio do sangue, resultando em respiração mais curta e edema de pulmões. No entanto, a tostagem dos grãos praticamente elimina esses problemas. No caso da soja o tratamento térmico destrói a uréase e inativa a lipase, o que prolonga o tempo de estocagem dos grãos, além de aumentar consideravelmente seu teor de proteína "bypass", o que pode se tornar um diferencial positivo deste produto, especialmente quando se trata de animais de alto potencial de produção. O aquecimento durante o processamento do caroço de algodão faz com que a maior parte do gossipol se apresente na forma ligada não tóxica, embora o valor total não se altere. (Mielke & Shinghoethe, 1981).

Segundo Harris Jr. (1990), vários estudos foram realizados comparando os grãos de soja tostados ou crus com o farelo de soja. Os resultados obtidos são inconsistentes e parecem variar em função do volumoso, estágio de lactação e

idade das vacas. Ele afirma que, embora não se saiba exatamente as razões destas variações, algumas diretrizes para o uso dos grãos podem ser traçadas:

- a) Os grãos tostados têm mais proteína "bypass" e, portanto tendem a apresentar melhores resultados em vacas de alta produção em início de lactação.
- b) Grãos extrusados fornecidos em grande quantidade (5,5 a 6,8 kg/vaca/dia) podem causar grande depressão no teor de gordura do leite. Valores inferiores a 2,5 kg devem ser fornecidos na maioria das situações.
- c) Os grãos devem ser grosseiramente quebrados para melhorar seu aproveitamento. Este processamento deve ser freqüente para que se evite a rancificação dos lipídeos.
- d) Deve-se Iniciar o fornecimento gradualmente para evitar queda de consumo.

O caroço de algodão é um subproduto largamente utilizado em fazendas leiteiras. Sua principal vantagem está no alto teor de energia, embora ainda possua teor médio de proteína bruta e de fibra, sendo que esta fibra tem efetividade relativamente alta, estimulando a ruminação e a manutenção do funcionamento ruminal. Este alto nível de energia do caroço é oriundo de seu alto teor em óleos (20% com base na matéria seca). No entanto, devido ao seu alto teor de óleos insaturados, seu uso fica restrito a quantias de 2 a 3 kg por vaca/dia. Quando utilizado acima de 15% do total da dieta pode prejudicar a fermentação ruminal da fração fibrosa da dieta devido aos ácidos graxos insaturados. Com a utilização do caroço de algodão consegue-se substituir parcialmente o milho (fonte energética) e o farelo de soja (fonte protéica), reduzindo sensivelmente o custo da dieta (Pires et al., 1997).

A Tabela 1 mostra o perfil de ácidos graxos de algumas fontes de sementes oleaginosas utilizada na alimentação de vacas leiteiras. Essas fontes se destacam pelo conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados, sendo que há grande variação entre elas. O ácido linoléico predomina nas fontes mais comuns de sementes oleaginosas utilizadas no Brasil, os grãos de soja, de algodão e de milho, com a soja tendo ainda elevados teores de ácido linolênico, cuja principal fonte é o óleo de linhaça. Esses ácidos graxos são os principais precursores do ácido linoléico conjugado (CLA) na glândula mamária. Pode-se observar uma diferença importante entre o algodão, mais saturado, e as outras fontes mais insaturadas.

**TABELA 1** Composição de ácidos graxos de fontes de sementes oleaginosas utilizadas na alimentação de vacas leiteiras.

Tipo de ácido graxo	Teor de ácidos graxos (g/100g)					
	Algodão	Soja	Milho	Canola	Girassol	Linhaça
Mirístico (C <sub>14:0</sub> )	0,8	-	-	-	-	-
Palmítico (C <sub>16:0</sub> )	22,7	10,3	10,9	4,8	5,4	5,3
Palmitoléico (C <sub>16:1</sub> )	0,8	0,2	0,1	0,5	0,2	-
Esteárico (C <sub>18:0</sub> )	2,3	3,8	1,8	1,6	3,5	4,1
Oléico (C <sub>18:1</sub> )	17,0	22,8	24,2	53,8	45,3	20,2
Linoléico (C <sub>18:2</sub> )	51,5	51,1	58,0	22,1	39,8	12,7
Linolênico (C <sub>18:3</sub> )	0,2	6,8	0,3	11,1	0,2	53,3
Outros	4,7	5,0	4,4	6,1	5,6	4,4
Saturados (%)	25,8	14,2	12,7	6,4	8,9	9,4
Monoinsaturados (%)	17,8	23,0	24,2	54,3	45,5	20,2
Poliinsaturados (%)	51,7	57,8	58,3	33,2	40,0	66,0

Fonte : Adaptado de Medeiros, 2002

### **2.3 Limitações no uso de lipídeos na dieta de vacas leiteiras**

Diversos autores ressaltam algumas limitações no uso de lipídeos na dieta de vacas em lactação, nos níveis indicados para máxima eficiência da produção animal. Palmquist & Weiss (1994) sugerem que a eficiência energética máxima para produção de leite é conseguida quando cerca de 15 a 20% da energia metabolizável dietética for fornecida na forma de lipídeos (aproximadamente 8% da dieta, em peso).

Church (1993) ressalva que a inclusão de lipídeos na dieta de ruminantes como forma de permitir alto consumo de energia, nem sempre é um método eficaz, uma vez que altos níveis podem reduzir a digestão da matéria seca no rúmen provocando menor disponibilidade de energia, causando distúrbios na fermentação ruminal aumentando as perdas de energia pelas fezes. De acordo com Palmquist (1989), isso ocorre pelo efeito inibitório dos ácidos graxos insaturados sobre os microorganismos do rúmen, particularmente sobre as bactérias celulolíticas, o que reduz a digestibilidade da fibra da dieta. Esta redução também pode ocorrer quando os lipídeos em níveis mais elevados promovem uma barreira física, formando uma capa sobre as partículas da dieta, impedindo a ação das enzimas microbianas para a degradação do alimento. No entanto, acredita-se que, geralmente, a liberação de óleo de sementes oleaginosas ocorra lentamente, resultando em efeitos mínimos sobre microorganismos celulolíticos. Quando a quantidade de fibra consumida é maior parece também reduzir os efeitos negativos de lipídeos sobre a digestão da fibra. A fibra reduz a ligação dos ácidos graxos com as células microbianas diminuindo a inibição em culturas puras (Palmquist & Jenkins, 1980)

De acordo com Chouinard et al. (1997), processos como extrusão e moagem podem acelerar a liberação de óleos livres de sementes oleaginosas inteiras, valorizando os efeitos negativos desses óleos sobre a digestibilidade da fibra. Processos químicos ou físicos como hidrogenação, saponificação e

encapsulação, têm sido usados rotineiramente para reduzir a atividade de gorduras no rúmen.

O fornecimento de lipídeo na dieta, de maneira geral tende a deprimir os teores de gordura no leite. A magnitude desse efeito depressor está em função principalmente da quantidade e do tipo de lipídeo utilizado. Os lipídeos poliinsaturados ou ricos em ácidos graxos do tipo *trans* (óleos vegetais e óleo de peixe) são os que têm maior efeito depressor no teor de gordura do leite. Os lipídeos saturados e os protegidos têm menor atuação nesse aspecto. O aporte desses lipídeos na dieta tem um efeito direto sobre a fermentação ruminal, provocando, por um lado à modificação na ingestão por efeito da saciedade do animal e, por outro, pela modificação das fermentações ruminais com mudanças da flora celulolítica, diminuindo a digestibilidade da fibra. Em resposta ocorre uma redução na produção de ácidos graxos voláteis em particular o acetato em relação ao propionato (Peres, 2001).

Essa redução da gordura do leite também ocorre por outras razões que não o perfil dos ácidos graxos voláteis no rúmen. Ela pode ser explicada pelo aumento na proporção de ácidos graxos *trans*, principalmente o C<sub>18:1</sub> *trans* 10 e C<sub>18:2</sub> *trans* 10 *cis* 12, que de alguma forma promove inibição direta da síntese de gordura na glândula mamária em algum nível das rotas bioquímicas. Esse mecanismo de inibição ainda não está totalmente elucidado. Os ácidos graxos de configuração *trans*-10 inibe não apenas a síntese de gordura, mas também a síntese endógena de CLA pelo bloqueio da dessaturação do ácido vacênico (Palmquist, 2001).

A adição de lipídeos à dieta do animal normalmente diminui a porcentagem de proteína no leite em 0,1 a 0,3 unidades percentuais ou cerca de 0,07% para cada 450g de lipídeo adicionado. Segundo Palmquist & Weiss (1994), uma explicação para tal fato é que os microrganismos do rúmen não estão aptos para utilização de lipídeo como fonte de energia para seu

desenvolvimento, afetando a síntese de proteína microbiana e conseqüentemente o fornecimento de aminoácidos para a composição da proteína do leite. Esses autores citam ainda que outras hipóteses incluem algum tipo de atuação dos lipídeos no transporte de aminoácidos para a glândula mamária, uma redução na somatotropina, com queda no consumo, reduzindo o alimento das bactérias ruminais.

Com a introdução de lipídeos na dieta há uma tendência de mudanças no hábito alimentar, onde as refeições ocorrem em menores intervalos e com tempo mais reduzido, provavelmente, devido a menor motilidade intestinal e, conseqüentemente, redução na taxa de passagem da digesta pelo trato digestivo.

#### **2.4 Metabolismo dos lipídeos em ruminantes**

Segundo Palmquist et al. (1993), a quantidade de lipídeo dietético transformado diretamente para a gordura do leite é influenciada principalmente por três fatores: 1) lipólise e biohidrogenação ruminal, 2) absorção (digestibilidade) e 3) relação reserva/excreção de lipídeos nos tecidos adiposos.

Os lipídeos que chegam ao rúmen por via digestiva são transformados seguindo dois processos principais: inicialmente ocorre uma extensa hidrólise dos lipídeos esterificados da dieta, onde os triacilgliceróis, galactolipídeos e fosfolipídeos liberam ácidos graxos livres (AGL) e glicerol por ação de lipases de natureza extracelular produzidas pelos microrganismos ruminais. Nem todas as bactérias possuem atividade lipolítica, o mesmo acontecendo com os fungos e protozoários do rúmen. *Anaerovibrio lypolitica* parece ser o principal microrganismo envolvido no processo hidrolítico dos lipídeos (Church, 1993). Logo após a hidrólise, os ácidos graxos de cadeia insaturada sofrem biohidrogenação, mecanismo que reduz sua reatividade, mantendo com mais eficiência a integridade das membranas lipoprotéicas dos microorganismos. A biohidrogenação é um processo bioquímico de saturação que permite um



aumento da absorção de ácidos graxos por parte das células do intestino. Os ácidos graxos poliinsaturados, principalmente os ácidos linoléico e linolênico são hidrogenados pelas bactérias, produzindo primeiro o ácido oléico e finalmente o ácido esteárico (Jenkins et al., 1996; Palmquist, 2001). A posição das duplas ligações é alterada e geralmente os ácidos graxos são convertidos para a forma mais estável (trans) que se acumulam já que são hidrogenados com mais dificuldade. Estes compostos são absorvidos e transportados para os tecidos, contribuindo para o elevado ponto de fusão das gorduras dos ruminantes (Teixeira & Teixeira, 2001).

#### **2.4.1 Metabolismo de ácidos graxos voláteis**

Os ácidos graxos voláteis juntamente com metano, dióxido de carbono amônia e material celular são os principais produtos finais formados da incompleta oxidação dos alimentos no rúmen e são considerados a maior fonte de energia para os ruminantes. O rúmen possui imensa capacidade de absorção de ácidos graxos voláteis em razão da sua grande superfície e adequado suprimento sanguíneo. Alguns destes ácidos graxos são metabolizados durante sua passagem pelo rúmen. Em especial 70 a 90% do ácido butírico é convertido em  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB), via  $\beta$ -hidroxi- $\beta$ -metilbutiril-CoA, e acetoacetato. Igualmente, uma parte do ácido propiônico sofre fixação de  $\text{CO}_2$  e conseqüente formação de succinato, sendo utilizado pelo tecido. A maior parte do propionato, entretanto, vai para o fígado onde é metabolizado a succinato por meio do ciclo de Krebs, para posterior formação de glicose, o principal precursor da lactose do leite. O acetato, em menor proporção, também é metabolizado no rúmen, dando origem, possivelmente a corpos cetônicos, de forma semelhante ao butirato. (Church, 1993; Teixeira & Teixeira, 2001).

As proporções relativas dos principais ácidos graxos voláteis formados no rúmen de animais recebendo principalmente forragens estão entre 60-70% de



acetato, 18-22% de propionato e 13-16% de butirato, 2-4% de valerato e traços de formato. (Church, 1993; Teixeira & Teixeira, 2001).

#### **2.4.2 Metabolismo de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL)**

Ao contrário dos ácidos graxos voláteis os AGCL não são absorvidos a nível ruminal e sim pelas células do intestino onde são reesterificados, armazenados nos enterócitos como mono, di ou triacilgliceróis, colesterol e fosfolipídios que serão incorporados aos quilomicrons e então absorvidos e distribuídos pelo sistema linfático até os tecidos periféricos, incluindo a glândula mamária. (Bauchart, 1993). Os ácidos graxos livres e os monoacilgliceróis são captados pelas células mamárias para formação de gordura, em particular aquelas ricas em ácidos graxos de cadeia longa.

O tecido adiposo possui grande capacidade de sintetizar ácidos graxos. As gorduras localizadas no tecido adiposo de ruminantes ocorrem quase que exclusivamente na forma de triacilgliceróis com predominância de C<sub>16</sub> e C<sub>18</sub>. e pouco C<sub>18:1</sub> e C<sub>18:2</sub> (Emery & Herdt, 1991). Os ácidos graxos mobilizados do tecido adiposo são inicialmente complexados com albumina e pode ser utilizado por uma ampla variedade de tecidos e órgãos incluindo a glândula mamária e o fígado. Os ácidos graxos no interior do fígado podem ser oxidados ou esterificados principalmente com glicerol para formar triacilgliceróis que podem ser estocados ou exportados como parte de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). O metabolismo hepático de ácidos graxos está positivamente relacionado com a concentração de ácidos graxos no sangue, que por sua vez está negativamente relacionado ao balanço de energia (Grummer, 1991).

De forma esquemática a Figura 1 mostra o fluxo geral dos ácidos graxos provenientes da dieta, seu metabolismo nos ruminantes e seus efeitos sobre o rúmen, o intestino e a glândula mamária.



### 2.4.3 Síntese de gordura na glândula mamária

Aproximadamente 40 a 60% dos ácidos graxos encontrados na gordura do leite provém do plasma sanguíneo. Estes ácidos graxos são derivados dos quilomicrons e, principalmente, das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), sintetizadas no epitélio intestinal e no fígado. Essas lipoproteínas contribuem com cerca de 60 a 70% dos ácidos graxos de 14 átomos de carbono, 70 a 90% dos ácidos graxos de 16 carbonos e a totalidade dos ácidos graxos de cadeia longa (C<sub>18</sub> e mais longos). Os ácidos graxos de cadeia curta (C<sub>4</sub> a C<sub>12</sub> e parte do C<sub>14</sub> e C<sub>16</sub>) provém da síntese *de novo* a partir de precursores absorvidos do sangue. Nos ruminantes estes precursores são acetato e β-hidroxibutirato. Alguns subprodutos do acetato e do butirato como os corpos cetônicos também podem ser utilizados como precursores da síntese de gordura do leite (Palmquist & Jenkins, 1980; Grummer, 1991; Chilliard et al., 2000; Teixeira & Teixeira, 2001).

O mecanismo de síntese de ácidos graxos na glândula mamária envolve várias etapas que são catalisadas por duas enzimas principais a acetil-CoA carboxilase e a ácido graxo sintetase. A acetil-CoA carboxilase catalisa a produção de malonil-CoA a partir do acetil-CoA e é a enzima limitante da velocidade para a via de síntese dos ácidos graxos. Há uma estreita relação observada entre a síntese de ácidos graxos pelo tecido mamário e a atividade da acetil-CoA carboxilase durante a lipogênese. A ácido graxo sintetase é um grande complexo de atividade enzimática responsável pelo alongamento da cadeia dos ácidos graxos catalisando os ciclos de condensação do malonil-CoA com acetil-CoA ou butiril-CoA, originados do metabolismo do acetato ou do BHB (Chilliard et al., 2000).

A Figura 2 mostra um resumo das reações de síntese dos ácidos graxos na glândula mamária. Cada ciclo completo da via malonil-CoA resulta em 2 carbonos sendo adicionados à cadeia de ácidos graxos.

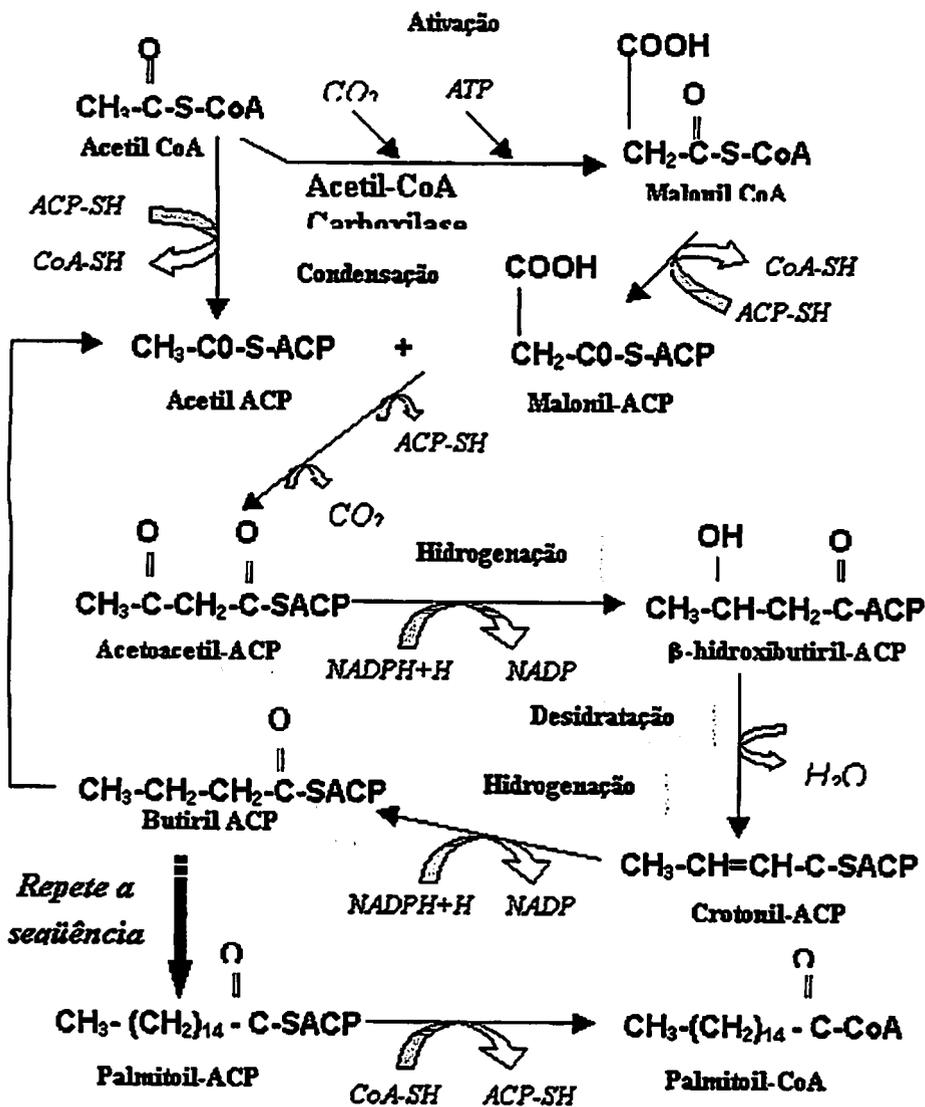


FIGURA 2 Resumo das reações de síntese dos ácidos graxos na glândula mamária (adaptado de Teixeira & Teixeira, 2001).

A reação total na Figura 2 é dada para a síntese de palmitato ( $C_{16:0}$ ). Os passos no alongamento na via da enzima ácido graxo sintetase envolvem: ativação; condensação; redução; desidratação e outra redução até que o ciclo se repita. Faz parte desse complexo uma acilproteína carreadora envolvida no crescimento da cadeia esterificada do ácido graxo. Também, há enzimas acil-tioesterases que são responsáveis pelo corte do crescimento da cadeia de ácido graxo da acil proteína carreadora, uma vez que ela tenha atingido certo comprimento. A longa cadeia da aciltioestearase quebra cadeias de ácidos graxos maiores de 16 carbonos.

## 2.5 A gordura do leite

O leite contém em torno de 3,5% de gordura. Os lipídeos que majoritariamente ocorrem no leite de vaca são os triacilgliceróis (97 a 98% dos lipídeos totais). O restante é formado por diacilgliceróis (0,28-0,59%); monoacilgliceróis (0,016-0,038%); fosfolipídeos (0,2-1,0%), que está associado principalmente com a membrana do glóbulo de gordura; ácidos graxos livres (0,10-0,44%); colesterol (0,3%), localizado na sua maior parte no centro do glóbulo e pequenas quantidades de outros componentes solúveis nos lipídeos como vitaminas e substâncias responsáveis pelo “flavor” do leite e produtos lácteos. A pequena concentração de monoacilgliceróis, diacilgliceróis e ácidos graxos livres em leite fresco, pode ser devido a lipólise que acontece no leite ainda no úbere da vaca ou pode ser devido a uma síntese incompleta. O teor de gordura é importante sob o aspecto nutricional, pois é fonte de energia e de ácidos graxos essenciais principalmente o linoléico. Entretanto, é causa de preocupação por alguns, visto que a própria energia é muitas vezes indesejável para pessoas que não querem engordar, associado ao fato da gordura do leite conter cerca de 0,3% de colesterol. Industrialmente a gordura possui grande importância, pois é a matéria-prima para a elaboração da manteiga, além de

entrar como um dos principais componentes de certos produtos como o queijo, requeijão, sorvete, doce de leite, iogurte, etc, embora alguns tipos desses produtos podem ser elaborados com leite desnatado. A gordura confere aos produtos sabor, aroma, untuosidade, melhora a consistência e a aparência geral.

Seguramente a gordura é o componente do leite que apresenta maior amplitude de variação, em função de diversos fatores como: estágio de lactação, estação do ano, componente genético, intervalo entre ordenhas, nível de produção etc. No entanto, a alimentação é sem dúvida o fator que mais contribui para esta variação. O estudo dos fatores alimentares que afetam o teor de gordura tem importância sob o ponto de vista de rendimento industrial em especial na fabricação de queijos. Um aumento ou redução no teor de gordura do leite afeta de maneira positiva ou negativa o rendimento provocado pela maior ou menor retenção de água no queijo devida a sinérese durante a elaboração no tanque de fabricação. Maior teor de gordura no leite levará a menor perda de soro por meios físicos e maior teor de umidade do queijo devido ao efeito inibidor da gordura na sinérese. Os glóbulos de gordura, além de limitarem a agregação de caseína, podem atuar como um tampão bloqueando o fluxo de soro através dos canais da coalhada. (Green & Grandison, 1993).

## **2.6 Efeito da suplementação da dieta com lipídeos no perfil dos ácidos graxos da gordura do leite**

Os lipídeos da dieta utilizados normalmente na alimentação de ruminantes são metabolizados no rúmen. Assim, apenas uma fração (estimada em 40 a 45%), dos ácidos graxos da dieta fará parte dos ácidos graxos do leite destes animais. No entanto, em casos de suplementação em especial com lipídeo protegido, os lipídeos passam diretamente ao intestino e tornam-se componentes do perfil dos ácidos graxos do leite. Desta forma a composição de ácidos graxos

do leite pode ser alterada pela proporção de lipídeos protegidos da dieta (Palmquist & Jenkins, 1980).

A gordura do leite é constituída primariamente por triacilgliceróis que são sintetizados nas células epiteliais da glândula mamária, sendo que os ácidos graxos que os compõem são originados de duas fontes principais: triacilgliceróis circulantes no sangue, oriundos da mobilização das reservas corporais ou dos ácidos graxos absorvidos da dieta, e da síntese *de novo* de ácidos graxos (Hillbrick & Augustin, 2002).

De acordo com Grummer (1991), aproximadamente 50% dos ácidos graxos encontrados na gordura do leite provém do sangue, sendo que desses, 88% são originados da dieta e 12% de contribuição endógena. Estes ácidos graxos são derivados dos quilomicrons e, principalmente, das lipoproteínas de muito baixa densidade, sintetizadas no eptélio intestinal e no fígado.

O perfil de ácidos graxos do leite caracteriza-se por conter desde ácidos graxos de cadeia curta até ácidos graxos de cadeia muito longa, com 26 carbonos, incluindo ácidos graxos com número ímpar de carbono e de cadeia ramificada. Este perfil é fortemente influenciado pelo período de lactação em razão da necessidade de mobilização de reservas lipídicas no início da lactação (DePeters & Cant, 1992).

Os principais ácidos graxos do leite são: mirístico ( $C_{14:0}$ ), palmítico ( $C_{16:0}$ ), esteárico ( $C_{18:0}$ ) e oléico ( $C_{18:1}$ ) e os de cadeia curta: butírico ( $C_4$ ), capróico ( $C_6$ ), caprílico ( $C_8$ ) e cáprico ( $C_{10}$ ). O ácido butírico é próprio da gordura do leite de ruminantes, sendo responsável juntamente com o capróico pelo aroma característico do leite quando são hidrolisados do glicerol, pela ação de lipases. Os ácidos graxos saturados são predominantes no leite, formam de 60% a 70% dos triacilgliceróis. Já os monoinsaturados correspondem de 25% a 30%. A distribuição dos ácidos graxos nos triacilgliceróis, embora possa acontecer em centenas de combinações diferentes não acontece de forma

aleatória. O tipo e a posição do ácido graxo esterificado ao glicerol é importante para determinar as propriedades físicas desse lipídeo. Em geral, na posição SN<sub>1</sub> do glicerol, está esterificado ácido graxo de cadeia longa, ao passo que na posição SN<sub>3</sub> esterificam, na maioria das vezes, ácidos graxos de cadeia curta ou insaturada (DePeters & Cant, 1992; Hillbrick & Augustin, 2002).

Vários estudos (Smith et al., 1981; Grummer, 1991; Palmquist & Weiss, 1994; Chouinard et al., 1997; Santos, 1999), tem demonstrado que as proporções de ácidos graxos de cadeia curta e média sintetizados pela síntese *de novo* decresce linearmente quando lipídeos suplementares são fornecidos à vacas em lactação e que a maior parte dessa inibição é devido a efeitos específicos sobre a glândula mamária mediados pelo incremento da ingestão de ácidos graxos de cadeia longa. A atividade da acetil-CoA carboxilase, a enzima limitante da velocidade na síntese de ácidos graxos, é reduzida na presença de ácidos graxos de cadeia longa *in vitro*.

Grummer (1991), observa que as modificações no conteúdo de C<sub>16</sub> e C<sub>18</sub> na gordura do leite são positivamente correlacionadas com as taxas desses ácidos graxos nos suplementos lipídicos presentes nas rações. O mesmo autor afirma que a extensão da depressão no conteúdo de C<sub>16:0</sub> da gordura do leite parece ser negativamente relacionada com o conteúdo de C<sub>16:0</sub> do suplemento alimentar.

A inclusão de óleos vegetais na alimentação de vacas lactantes tende a elevar o conteúdo de ácidos graxos de cadeia longa com freqüente diminuição dos ácidos graxos de cadeia curta. Grummer et al. (1991), cita reduções de 20 a 40% no conteúdo de C<sub>4</sub> a C<sub>16</sub> e um incremento de 55 a 60% em C<sub>18:0</sub> ou C<sub>18:1</sub> na gordura do leite quando se utilizou dietas contendo canola inteira e óleo de girassol. Da mesma forma o uso de suplementos lipídicos, em especial óleos vegetais, favorece o incremento de ácidos graxos insaturados com conseqüente redução dos saturados.

Um aspecto importante que afeta a composição de ácidos graxos oriundos da dieta e que são disponíveis para a glândula mamária é a biohidrogenação promovida por algumas bactérias ruminais. A biohidrogenação é um obstáculo ao fornecimento de ácidos graxos insaturados para a deposição no tecido adiposo ou incorporação pela glândula mamária, pois, em dietas convencionais, quase todo  $C_{18:2}$  e  $C_{18:3}$  são biohidrogenados. Em média, 80% do ácido linoléico e 92% do ácido linolênico são saturados pela biohidrogenação (Fellner et al., 1995).

O passo inicial na biohidrogenação do ácido linoléico ( $C_{18:2}$  *cis9*, *cis12*) presente na dieta é a sua isomerização a *cis9*, *trans11* (ácido linoléico conjugado), catalisada por uma isomerase específica. Posteriormente ocorrerá a hidrogenação das ligações *cis9* e *trans11* em duas etapas até o produto final ácido esteárico ( $C_{18:0}$ ). Este processo, no entanto, não é totalmente eficiente, o que pode gerar o aparecimento de produtos intermediários de 18 carbonos com duplas ligações trans na gordura do leite. Esses isômeros trans no leite de ruminantes podem perfazer aproximadamente 5% do total de ácidos graxos presentes na gordura (Blowey, 1992). Embora seja essa a principal via de biohidrogenação, existem outras que originam diferentes tipos de ácidos dienóicos e ácidos graxos monoinsaturados.

A saponificação para formar sais de cálcio tem sido a maneira mais comum para evitar a biohidrogenação de ácidos graxos insaturados. Óleos vegetais como o de palma, linhaça, girassol, canola, algodão e soja têm sido intensamente utilizados para este fim. Outro método de proteção mais recente é a reação de ácidos graxos com aminas primárias para formar amino-acil graxos que resistem a biohidrogenação e aumentam a quantidade de ácidos graxos poliinsaturados na gordura do leite (Jenkins et al., 1996; Jenkins, 1998).

No caso de sementes oleaginosas os lipídeos estão ligados na matriz protéica e isto pode minimizar os efeitos da biohidrogenação, devido a menor



exposição dos lipídeos aos microrganismos do rúmen. Vários autores (Palmquist & Jeenkins, 1980; Grummer, 1991; Chouinard et al., 1997) têm sugerido que esta proteção é particularmente maior quando as sementes são tratadas pelo calor.

Ácidos graxos de cadeia ramificada e de cadeia com número ímpar de carbono também estão presentes em grandes quantidades no leite dos ruminantes. Esses ácidos graxos podem ser sintetizados na glândula mamária ou originados do sangue como produto de lipídeos das bactérias do rúmen.

Estudo com suplementação com ácidos graxos de cadeia ramificada para vacas leiteiras com o objetivo de aumentar os níveis desses ácidos graxos na gordura do leite, muitos deles com importância de “flavor” desta gordura, foi desenvolvido por Abreu et al. (1993). Esses autores observaram que outros ácidos graxos que não estavam incluídos no suplemento também foram aumentados por esse tratamento, indicando que era possível modificar o perfil de ácidos graxos com características de “flavor” na gordura do leite.

No Quadro 1 são apresentados valores do perfil dos principais ácidos graxos do leite obtido de alguns experimentos utilizando óleos ou sementes de oleaginosas. Os valores se referem a leite de vacas holandesas puras ou mestiças.

QUADRO 1 Perfil dos principais ácidos graxos do leite obtido de alguns experimentos utilizando óleos ou sementes de oleaginosas

Ácido graxo (g/100g)	Grão de soja			Óleo de soja <sup>1 e 3</sup>		Caroço de algodão <sup>4</sup>	Óleo de Canola <sup>5</sup>
	Integral <sup>1</sup>	Moída <sup>2</sup>	tostada <sup>2</sup>				
Butírico (C <sub>4</sub> )	5,2	3,41	3,23	4,8	3,42	-	1,56
Caproíco	3,0	2,48	2,45	2,7	2,11	2,5	1,24
Caprílico	1,2	1,64	1,48	1,0	1,81	1,4	0,80
Cáprico (C <sub>10</sub> )	2,2	3,97	3,80	1,2	2,39	3,1	1,95
Láurico (C <sub>12</sub> )	2,2	3,65	3,50	1,8	3,41	3,3	2,58
Mirístico	7,0	10,06	9,71	6,1	9,71	10,8	11,00
Miristoléico	-	0,78	0,77	-	1,88	0,8	1,06
Palmítico	19,4	23,39	21,61	16,	27,8	29,7	25,87
Palmitoléico	0,9	1,92	2,05	0,9	2,45	1,5	1,52
Estearíco	11,8	15,86	15,25	11,	9,84	14,2	13,84
Oléico (C <sub>18:1</sub> )	32,1	23,67	26,22	31,	30,02	27,1	35,13
Linoléico	2,1	5,22	5,87	1,3	2,85	3,5	2,14 <sup>1</sup>
Linolênico	0,1	1,15	1,23	0,1	-	0,6	0,20

Fonte: <sup>1</sup> Santos (1999) <sup>2</sup> Chouinard et al. (1997) <sup>3</sup> Pinto, (1997) <sup>4</sup> Harrison, (1995) <sup>5</sup> Jenkins, (1998)

## 2.7 Efeito da suplementação das dietas com lipídeos no teor de CLA do leite

O CLA é um termo usado para denominar uma mistura de isômeros de posição e geométricos do ácido linoléico (ácido octadecanóico *cis* 9 *cis*12) que contém duplas ligações conjugadas. O isômero predominante é o *cis*-9 *trans*-11, que representa 80 a 90% dos CLA encontrados na gordura do leite. Por ser derivado do processo de biohidrogenação ruminal e pelo fato de ser encontrado em maior concentração em produtos de ruminantes este isômero tem sido denominado com o nome comum de ácido rumênico (Ip et al., 1994; Palmquist,

2001). A Figura 3 mostra as estruturas químicas dos principais isômeros de CLA encontrados no leite comparadas com o ácido linoléico.

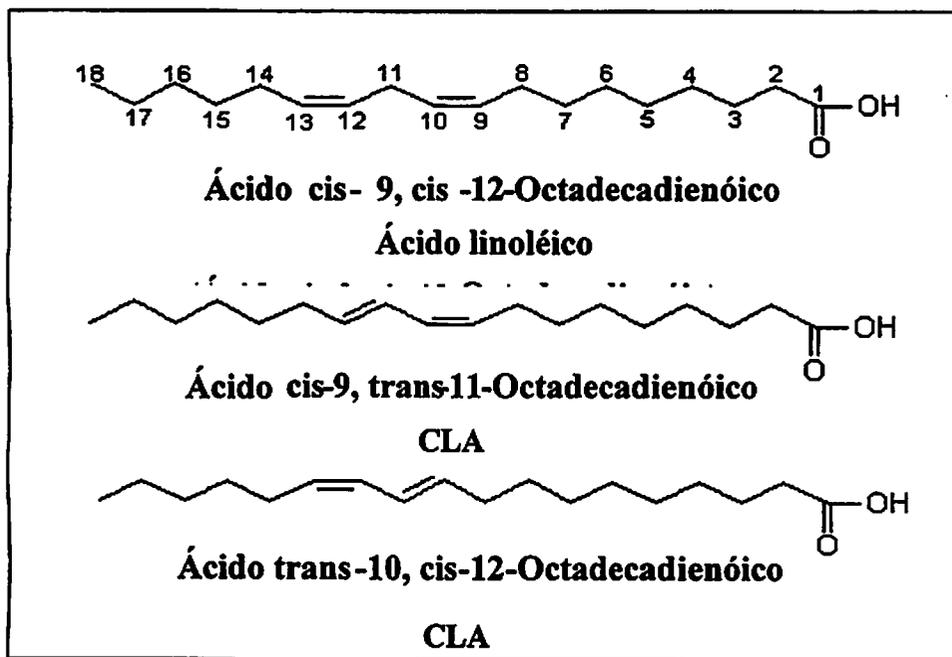


FIGURA 3 Estrutura química do ácido linoléico e isômeros de CLA

Além do caminho clássico da biohidrogenação incompleta do ácido linoléico e linolênico, os CLA podem ser sintetizados também a partir do Trans-11  $C_{18:1}$  através da ação da delta-9 dessaturase (também conhecida como stearoil-CoA dessaturase) presente na glândula mamária. De acordo com Griinari et al. (2000), a significância quantitativa da síntese endógena de CLA é maior que a via da biohidrogenação. Essa informação é importante no entendimento do mecanismo de biossíntese do CLA e permitirá melhoria nas estratégias de alimentação dos animais que poderão resultar em maior

concentração de CLA na gordura do leite. A Figura 4 mostra as principais vias de síntese do CLA.

O ácido linoléico conjugado (CLA) tem recebido atenção nos últimos anos por causa de suas propriedades biológicas relacionadas com a saúde, incluindo, entre outras, sua atividade anticarcinogênica, redução na gordura corporal, efeito antidiabético, redução no desenvolvimento de artereosclerose e modulador do sistema imunológico.

O conteúdo médio do CLA no leite varia entre 0,3 a 0,6% do total de ácidos graxos. O consumo de CLA pelos humanos é baixo em relação às doses que são recomendadas como efetiva na redução de tumores em experimentos com animais. A ingestão de CLA poderia ser aumentada pelo incremento no consumo de alimentos originados de ruminantes ou pelo incremento do conteúdo de CLA nesses próprios alimentos (Dhiman et al., 2000).

Em estudo realizado em animais de laboratório, Ip et al. (1994) demonstraram uma redução de tumor mamário induzido em função dos níveis de CLA da dieta. Os tumores na glândula mamária são particularmente sensíveis aos efeitos do CLA, o que pode ser explicado, em parte, pela acumulação preferencial do CLA em lipídeos neutros de adipócitos que é o tipo de célula predominante no tecido mamário (Ip, 2001).

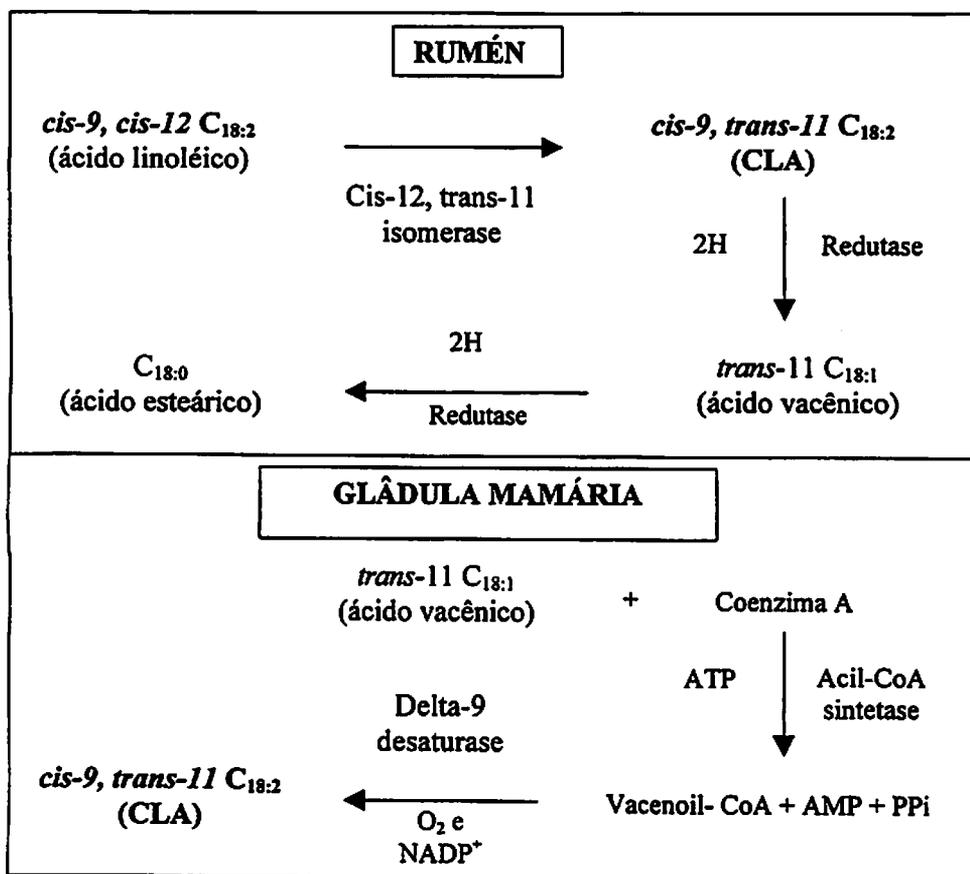


FIGURA 4 Possíveis vias metabólicas para biossíntese do CLA (Adaptada de Palmquist, 2001).

Vários mecanismos têm sido propostos para a atuação do CLA. Entre esses estão os efeitos na inibição da síntese de nucleotídeo (Shultz et al., 1992), inibição da carcinogênese por meio da redução na diferenciação celular e angiogênese (Parodi, 1998; Ip, 2001), atuação por mecanismos antioxidantes (Ha et al., 1990; Banni et al., 1995), redução da atividade proliferativa (Ip et al., 1994).

Medeiros (2002), citando Bognoux et al. (2001) afirma que apesar de bem estabelecido para modelos animais e cultura de células e tecidos, ainda faltam trabalhos mostrando efeito anticarcinogênico do CLA em humanos. Todavia, há evidências epidemiológicas que populações com maiores consumos de leite e produtos lácteos teriam menor incidência de câncer mamário. Inferências feitas por Medeiros (2002) sobre dados de Knekt et al. (1996) demonstram que a redução do risco de câncer de mama deve ocorrer com ingestão de cerca de 350 mg de CLA por dia e que seriam necessários o consumo de 2 litros de leite diariamente considerando o teor médio de 5 mg CLA/g de gordura no leite. Assim, um aumento no teor de CLA no leite se justifica e ganha maior importância do ponto de vista de saúde de quem o consome. O aumento do teor de ácidos graxos insaturados, na dieta de vacas em lactação, pode aumentar de forma natural o CLA no leite, atendendo a uma exigência cada vez maior do consumidor em relação aos alimentos, quanto a sua funcionalidade e qualidade, dando preferência a alimentos mais naturais.

Lawless et al. (1998) indicaram que a suplementação em dietas de vacas com quantidades similares de óleo derivado de grãos de soja tostado, produziram significativamente mais CLA no leite (27%) quando comparadas com vacas sob a dieta controle que não continha nenhuma suplementação com lipídeo. Este incremento chegou a 60% quando se utilizou óleo derivado de grãos de canola.

Dhiman et al. (2000) utilizando grãos de soja cru ou tostado, óleo de soja e de linhaça, encontraram que a adição de 2% de óleo de soja aumentou o conteúdo de CLA em 237% e que o teor de CLA pode ser aumentado pela utilização de fontes de ácidos linoléico e linolênico, na forma de óleo ou de sementes oleaginosas na ração, desde que este óleo esteja acessível aos microrganismos do rúmen para biohidrogenação.

Resultados semelhantes foram encontrados por Chouinard et al. (2001), quando conduziram experimento para verificar o efeito do tratamento térmico realizado por diversos métodos em grãos de soja. O conteúdo de CLA foi significativamente mais elevado (duas a três vezes) quando os grãos de soja foram submetidos a algum tratamento térmico em relação à soja crua moída com destaque para a soja moída extrusada a 120°C. Esses autores, trabalhando com fontes de óleos vegetais (canola, linhaça e soja) protegidos com sais de cálcio, conseguiram aumentos de três a cinco vezes no valor de CLA quando comparados ao controle.

Santos (1999) observou que a ração suplementada com óleo de soja aumentou significativamente o percentual de CLA do leite de vacas multíparas 7/8 holandês-zebu em início de lactação, comparada com grão integral. O autor concluiu que os lipídeos do óleo de soja, não os presentes no grão de soja integral, podem ser utilizados em dietas de vacas leiteiras para elevar o nível de CLA no leite. O autor atribui este resultado ao fato de que os grãos de soja possuem os lipídeos presos na matriz protéica da semente e que estaria, portanto, indisponível no rúmen para biohidrogenação.

Alguns estudos (Loor & Herbein, 1998; Dhiman et al., 2000; Medeiros, 2002) tem demonstrado que a suplementação de ração de vacas com os CLA produzidos sinteticamente reduziram acentuadamente a concentração e a quantidade de gordura do leite. Alguns destes autores concluíram a partir de infusões abomasais que os isômeros contendo uma dupla ligação na posição 10 (cis-8, trans-10 e trans-10, cis-12) parecem ter efeito inibitório sobre a síntese de gordura do leite. De acordo com Chouinard et al. (1999), o aumento da produção dos CLA contendo isômeros ativos pode permitir seu uso para reduzir o teor de gordura do leite em rebanhos leiteiros, podendo essa tecnologia ser útil para melhorar o balanço energético de vacas leiteiras, especialmente no início de lactação, sendo então direcionada para maior produção de leite ou para produzir

leite com baixo teor de gordura onde este for economicamente viável e eventualmente melhorar o desempenho reprodutivo dos animais.

Medeiros (2002) considera que o incremento do conteúdo de CLA em produtos lácteos, independentemente de ser através da nutrição, manipulação ruminal ou suplementação direta ao animal, tem o apelo de ser um processo mais natural do que, por exemplo, a incorporação de óleo ao leite, como no caso do leite enriquecido com Ômega-3.

Assim, parece possível via manipulação da dieta da vaca leiteira aumentar a produção de CLA, que traria inúmeros benefícios para a saúde humana, assim como o fornecimento dietético de CLA poderia, no futuro, ser opção para aumentar a produção de leite e reduzir o teor de gordura do mesmo principalmente para vacas no início da lactação.

## **2.8 Lipídeos no leite e saúde do consumidor**

Nas últimas décadas, observou-se grande aumento na incidência de aterosclerose das artérias coronárias, com destaque entre as causa de morte em diversos países. Na maioria dos casos, a doença coronária ocorre devido à deposição de gordura na camada íntima da parede arterial, produzindo posteriormente obstrução parcial ou total do lúmen da artéria comprometida. A aterosclerose é uma doença multifatorial, sendo hoje considerada como principal fator de risco a hipercolesterolemia. Existem outros fatores envolvidos, como obesidade, o tabagismo, aumento de triacilgliceróis, sedentarismo e estresse. A dieta exerce papel fundamental na determinação do aparecimento desses fatores, aumentando, assim, o risco de doenças cardiovasculares. Os fatores dietéticos que possuem efeitos adversos sobre o metabolismo das lipoproteínas são: maior ingestão de gorduras saturadas e colesterol e excessiva ingestão calórica, a qual leva a obesidade.

De maneira geral o efeito de determinado alimento nas taxas de colesterol não está relacionado apenas com a quantidade nele presente. Sabe-se que os níveis de lipoproteínas no sangue estão altamente relacionados com a taxa de colesterol. A ingestão de gordura saturada tende a elevar o conteúdo de VLDL e LDL (Lipoproteína de baixa densidade) com conseqüente aumento do colesterol sanguíneo. Dieta rica em lipídeos insaturados reduz o colesterol e em alguns casos aumenta o teor de HDL (Lipoproteína de alta densidade). A HDL, conhecido como bom colesterol, funciona como um varredor das moléculas de colesterol se transformando em LDL e VLDL para posteriormente serem eliminadas pelo fígado. Porém quando os níveis dessas lipoproteínas são altos mostra que o nível de colesterol no sangue é mais alto do que o indicado pelos exames, pois o organismo não consegue eliminar todo LDL e VLDL para o fígado fazendo com que o sangue fique saturado destas moléculas (Hunt & Funk, 1992; Brousseau et al., 1993; Mazier & Jones, 1997).

Esses aspectos são de grande importância no que se refere à composição da gordura do leite e produtos lácteos. Um incremento nos ácidos graxos insaturados, juntamente com a redução nos saturados, causaria um impacto positivo na imagem do consumo de produtos derivados do leite, que hoje ainda sofre restrições ao seu consumo. Grummer (1991) cita que durante o “Wisconsin Milk Marketing Board” em 1988 pesquisadores da indústria e do meio acadêmico foram unânimes em concluir que a gordura ideal, do ponto de vista nutricional, deveria conter 10% de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), incluindo os  $\omega$ -3, cerca de 8% de ácidos graxos saturados (SFA), e o restante (82%) formado por ácidos graxos monoinsaturados (MUFA). Ao comparar a composição típica da gordura do leite (5% de poliinsaturados, 70% de saturados e 25% de monoinsaturados) o autor constata a enorme diferença existente entre a gordura ideal e aquela normalmente encontrada no leite (Figura 5).

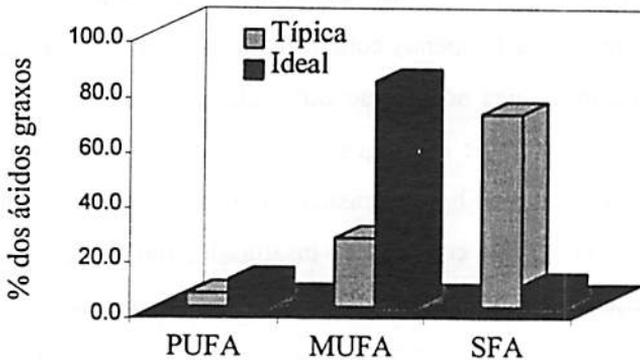


FIGURA 5 Comparação do perfil de ácidos graxos típico do leite e aquele considerado nutricionalmente ideal pelos participantes do “Wisconsin Milk Marketing Board” 1988. (PUFA = ácidos graxos poliinsaturados; MUFA = monoinsaturados e SFA = saturados).

No entanto, Kennely & Glimm (1998) sugerem que um aceitável perfil de ácidos graxos não requer mudanças tão extremas na composição dos ácidos graxos da gordura do leite, mas que a produção de leite com menor teor de gordura seria desejável. Segundo esses autores, é provável que a composição ideal pode requerer conceitos adicionais à luz das novas evidências dos efeitos individuais dos ácidos graxos sobre a saúde do consumidor. O interesse no conteúdo de CLA, por exemplo, seria mais evidente que mudanças na taxa de saturados para insaturados.

Dentre os ácidos graxos saturados, os ácido mirístico ( $C_{14:0}$ ) e o palmítico ( $C_{16:0}$ ) são os principais ácidos graxos envolvidos no aumento da LDL, um fator de risco de doenças coronárias. O láurico ( $C_{12:0}$ ) é considerado um indutor do aumento do nível de colesterol. O ácido esteárico ( $C_{18:0}$ ) cujo ponto de fusão é o mais alto entre os ácidos graxos saturados comuns, não está envolvido com o aumento do colesterol sanguíneo, pois quando ingerido é

transformado em ácido oléico (C<sub>18:1</sub>). Os ácidos graxos de cadeia curta não elevam o colesterol sérico. (Kennely & Glimm, 1998; Hillbrick & Augustin, 2002).

Os ácidos graxos poliinsaturados promovem a excreção do colesterol por meio dos ácidos biliares, redistribui o colesterol entre o sangue e os tecidos, reduz a capacidade do LDL de carregar o colesterol e aumenta o número de receptores de LDL. Entre os poliinsaturados, o ácido linoléico é o de maior consumo e o mais abundante, além de ser considerado ácido graxo essencial para o ser humano. Dos ácidos graxos monoinsaturados, o principal é o ácido oléico, presente no óleo de oliva, óleo de canola, e sementes oleaginosas. Os principais efeitos dos monoinsaturados são redução do colesterol total e LDL (sem reduzir o HDL), inibição da agregação plaquetária e ação trombótica. (Banni et al., 1995; Mazier & Jones, 1997).

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Local e grupo de animais

O experimento foi conduzido na Fazenda Vista Alegre II, pertencente a Newton Paiva Empreendimentos Rurais, localizada no município de Curvelo, no Norte do estado de Minas Gerais. Foram selecionadas 32 vacas da raça holandesa, variedade preta e branca, lactantes, levando-se em consideração a produção de leite (média de 18 kg/dia em duas ordenhas), número de dias em lactação (acima de 40 dias), escore de condição corporal (mínimo 3) e o nível de saúde geral de cada animal. Os animais eram ordenhados duas vezes ao dia e as dietas eram fornecidas em forma de ração total (concentrado mais volumoso), tendo disponibilidade total de água. As vacas foram identificadas e separadas de acordo com o box e tratamentos selecionados. Os dados dos animais utilizados no experimento estão relacionados na Tabela 2 juntamente com o grau de sangue, a idade, a produção anterior, o número de lactações e o número de dias em lactação no primeiro dia do início do experimento (04/10/2001).

### 3.2 Dietas Experimentais (Tratamentos)

As dietas experimentais foram compostas de silagem de capim napier (*Pennisetum purpureum*) e pré-secado de tifton (*Cynodon spp.*) como volumosos, e quatro concentrados contendo duas fontes de lipídeo (soja e caroço de algodão) oferecidas em duas formas físicas distintas (inteira e moída). Estas dietas combinadas constituíram os seguintes tratamentos. Soja em grão inteiro (SGI); Soja em grão moído (SGM); Caroço de algodão inteiro (CAI) e Caroço de algodão moído (CAM). As fontes de gordura foram adquiridas no mercado e já se encontravam previamente desativadas ao serem submetidas a tratamento térmico de tostagem

TABELA 2 Dados dos animais (vacas) utilizados no experimento

Nº da Vaca	Nº do Brinco	Grau de sangue H/Z	Idade (anos)	Produção (kg/dia)	Nº de lactações	Dias em lactação
1	307	7/8	4,9	24,45	3	50
2	356	3/4	4,3	18,65	2	77
3	436	3/4	3,8	20,15	2	59
4	376	3/4	4,2	17,15	2	143
5	347	3/4	4,4	24,85	2	120
6	198	3/4	6,2	25	3	70
7	383	PC/00	4,1	18,3	2	130
8	445	7/8	3,7	23,6	2	128
9	462	3/4	3,5	23,6	2	41
10	398	3/4	4,0	21,75	2	134
11	266	3/4	5,3	24,8	3	79
12	408	3/4	3,9	23,75	2	156
13	485	3/4	3,3	19,1	1	71
14	523	7/8	3,0	21,1	1	134
15	490	7/8	3,2	20,85	1	115
16	537	13/16	3,0	24,85	1	60
17	509	7/8	3,1	22,75	1	131
18	571	7/8	2,7	24,23	1	62
19	556	13/16	2,8	21,2	1	65
20	534	3/4	3,0	19,25	1	116
21	562	13/16	2,8	24,5	1	60
22	595	7/8	2,5	22,03	1	64
23	1853	GC01	5,2	26	3	65
24	508	13/16	3,1	22,75	1	90
25	1875	7/8	4,7	27,1	3	68
26	446	7/8	3,7	24,1	2	126
27	524	PC/00	3,0	24,95	1	133
28	1862	15/16	4,9	27,45	3	68
29	1878	15/16	4,7	22,1	2	71
30	1872	7/8	4,8	24,5	3	74
31	1984	3/4	4,1	23,6	2	79
32	1867	PC/00	4,9	23,2	3	46
<b>Média</b>	-	-	<b>3,9</b>	<b>22,87</b>	<b>1,9</b>	<b>90,13</b>

As rações concentradas foram balanceadas segundo as exigências estabelecidas pelo National Research Council - NRC (2001), e apresentaram o mesmo nível de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), energia, proteína bruta, cálcio e fósforo. Esses concentrados foram fornecidos duas vezes ao dia, em sistema “free stall”, numa proporção média de 4 Kg/animal. As formulações dos concentrados fornecidos aos animais e suas composições encontram-se na Tabela 3.

A composição bromatológica das fontes de lipídeos (caroço de algodão e grão de soja) utilizadas nesse experimento está descrita na Tabela 4.

**TABELA 3** Composição percentual das rações concentradas e que constituíram os tratamentos.

Ingredientes	Tratamentos			
	SGI	SGM	CAI	CAM
Fubá de milho	31,26	31,26	24,92	24,92
Soja tostada	25,00	25,00	xxxxx	xxxxx
Melaço em pó	3,00	3,00	3,00	3,00
Amiréia 150 S	4,04	4,04	6,00	6,00
Farelo de soja	1,00	1,00	5,38	5,38
Caroço de algodão	xxxx	xxxx	25,00	25,00
Polpa cítrica	32,00	32,00	32,00	32,00
Calcário calcítico	0,50	0,50	0,50	0,50
Fosfato bicálcico	0,60	0,60	0,60	0,60
Sal comum	0,50	0,50	0,50	0,50
Premix mineral <sup>2</sup>	0,30	0,30	0,30	0,30
Premix vitamínico	0,30	0,30	0,30	0,30
Enxofre em pó	0,30	0,30	0,30	0,30
Cloreto de potássio	0,50	0,50	0,50	0,50
Bicarbonato de sódio	0,40	0,40	0,40	0,40
Óxido de magnésio	0,30	0,30	0,30	0,30
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>

**TABELA 4** Composição bromatológica das fontes de lipídeos utilizadas no experimento.

Nutrientes	Soja integral (média ± dp*)	Caroço de algodão (média ± dp)
Matéria seca, %	88,24 ± 1,29	90,36 ± 1,40
Proteína bruta, % MS	39,05 ± 5,8	23,56 ± 3,31
Extrato etéreo, % MS	20,34 ± 2,06	19,51 ± 1,44
FDN, % MS	28,54 ± 1,02	47,44 ± 0,55
FDA, % MS	8,9 ± 1,46	38,60 ± 2,96
NDT, % MS	91,16 ± 8,72	77,64 ± 6,54
Cálcio, % MS	0,41 ± 0,29	0,21 ± 0,16
Fósforo, % MS	0,55 ± 0,13	0,64 ± 0,12

\*dp = desvio padrão.

### 3.3 Períodos experimentais e coleta de amostras

O ensaio foi composto de quatro períodos experimentais. Cada período teve uma duração de 14 dias, sendo 9 dias de adaptação à dieta e 5 dias de coleta de amostras, totalizando 56 dias. Os períodos foram assim constituídos: I – 4 a 17 de outubro de 2001; II – 18 a 31 de outubro de 2001; III – 1 a 14 de novembro de 2001 e IV – 15 a 28 de novembro de 2001. Amostras de leite foram coletadas diariamente, do 10º ao 14º dia, nas duas ordenhas, guardadas em potes plásticos de 100 mL, acondicionadas em caixa de isopor com gelo, e transportadas imediatamente para o laboratório onde foram procedidas as respectivas análises.

### 3.4 Análise do perfil dos ácidos graxos da gordura do leite

As análises cromatográficas do perfil dos ácidos graxos da gordura do leite foram realizadas no laboratório de Análise de Alimentos do Departamento

de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras em Lavras-MG. Foi utilizada a metodologia desenvolvida por Luddy et al. (1960), modificada por Abreu (1993) e descrita por Pinto (1997). Pequenas modificações foram introduzidas nestas técnicas na fase de esterificação, para melhorar a obtenção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos.

#### **3.4.1 Extração da gordura**

A gordura do leite foi extraída pela técnica do detergente BDI descrita por Abreu (1993). Pipetou-se 35mL de leite em balão volumétrico de 100mL, juntamente com 10 mL de BDI ( 30g de Triton-X-100 e 70g de tetrafosfato de sódio em água destilada completando o volume para 1 litro). Após completa homogeneização a mistura foi aquecida em banho-maria fervente por 5 minutos, após o qual procedeu-se nova homogeneização, seguida de um novo aquecimento por um período adicional de 10 minutos. A mistura foi então novamente homogeneizada e centrifugada por 1 minuto. Para completa separação da gordura na parte superior do balão, adicionou-se mistura álcool metílico:água (1:1) até que a camada de gordura permanecesse na parte média do gargalo do balão. O balão então foi colocado em um banho-maria a 70 °C por 5 minutos, após os quais coletou-se a gordura com uma pipeta de Pasteur. Essa gordura foi então transferida para pequenos frascos de vidro e devidamente identificadas. Em seguida as amostras que não foram imediatamente analisadas, foram armazenadas em freezer a -17 °C, para análise posterior.

#### **3.4.2 Obtenção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos**

Colocou-se em um tubo de ensaio de tampa rosqueada 0,2g de gordura previamente extraída do leite, juntamente com 2 mL de uma solução aquosa de hidróxido de sódio (1N). Triturou-se esta mistura utilizando-se um homogeneizador tipo Polytron por 1 minuto e posteriormente aqueceu-se em

banho fervente por 1 hora. Após resfriamento em água corrente, adicionou-se ao sabão formado, 0,5 mL de ácido sulfúrico 5,5 N. Para completa hidrogenação, aqueceu-se novamente em banho fervente por 10 minutos, em seguida resfriou-se e adicionou-se 10 mL de uma solução hexano:éter (1:1), seguido de completa homogeneização. O sobrenadante então, foi transferido para um tubo menor e o solvente evaporado em um fluxo de nitrogênio. Aos ácidos graxos foi adicionado 1 mL de BF<sub>3</sub> 14% em metanol e aquecido em banho fervente por 15 minutos para completa metilação. Após resfriamento, adicionou-se 5 mL de hexano aos ésteres metílicos, seguido de homogeneização e três lavagens com 10 mL de uma solução metanol:água (13%). Após cada lavagem seguiu-se uma centrifugação coletando-se a fase superior. Os ésteres metílicos, após esse processo, foram utilizados na análise cromatográfica.

### 3.4.3 Análises cromatográficas

A separação e quantificação dos ésteres metílicos foram realizadas num cromatógrafo a gás, modelo Varian 3.800 equipado com detector de ionização de chama (FID) e conectado a um microcomputador para registro e análise dos cromatogramas por meio do software “Varian Star Chromatography Workstation”. Utilizou-se uma coluna capilar OV- fused sílica de 30 m x 0,25 mm bonded (Ohio Valley Ind., Marietta, OH ).

As seguintes condições foram utilizadas para a separação cromatográfica:

- Temperatura da coluna (gradiente):

Temperatura (°C)	Aquecimento (°C/min)	Permanência (min)	Tempo total (min)
60	-	5	5
140	10	2	15
240	4	5	45

- Temperatura do injetor: 250 °C
- Temperatura do detector: 250 °C
- Vazão dos gases:

Nitrogênio (make up): 30mL/min

Hidrogênio: 60mL/min

Ar sintético: 360mL/min

- Fluxo do gás de arraste na coluna: 0,6 mL/min
- Injeção da amostra: 1,0  $\mu$ L da solução dos ésteres metílicos com razão do “split” de 1:4

A identificação dos picos dos ácidos graxos foi realizada por comparação com os tempos de retenção de uma mistura de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco™ 37 FAME Mix, Supelco, Inc., Bellefonte, PA). O valor percentual de cada ácido graxo foi calculado com base na soma total das áreas de todos os picos identificados, sendo que para os ácidos graxos de cadeia curta ( $C_4$  a  $C_{10}$ ) foram usados fatores de correção para as áreas dos picos, calculados a partir da mistura padrão de ácidos graxos, dividindo-se a área do pico do padrão ( $C_{11}$ ) com a área do pico de cada ácido graxo, conforme metodologia indicada por Kim Ha & Lindsay (1990).

A Identificação do pico do CLA foi realizada por diferença comparando-se os tempos de retenção da mistura de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos. O valor percentual do CLA foi calculado com base na soma total das áreas de todos os picos identificados.

### **3.5 Delineamento experimental e análises estatísticas**

O ensaio foi conduzido em sistema rotacional “change-over” com delineamento em quadrado latino, com 8 quadrados latinos 4x4, sendo quatro períodos e quatro animais, agrupados por produção e ordem de lactação. Cada animal em cada período correspondeu a uma parcela experimental, recebendo todos os tratamentos ao longo dos períodos. O Quadro 2 mostra o esquema do

experimento com a distribuição dos animais, períodos e tratamentos dentro dos quadrados latinos.

As análises estatísticas foram realizadas usando o programa estatístico SISVAR (Sistema de análise estatística), versão 4.3, segundo Ferreira (1999), por meio da Análise de variância e teste F, comparando-se as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey em nível de 1% de probabilidade. O modelo estatístico incluiu efeitos de: tratamento, quadrado latino, animal e período dentro de quadrado latino e a interação tratamento x quadrado latino.

**QUADRO 2** Distribuição dos animais, períodos e tratamentos dentro dos quadrados latinos

Quadrado latino	Período	Vacas			
		1	2	3	4
1	I	SGI	SGM	CAI	CAM
	II	CAM	SGI	SGM	CAI
	III	CAI	CAM	SGI	SGM
	IV	SGM	CAI	CAM	SGI
2	I	SGI	SGM	CAI	CAM
	II	CAM	SGI	SGM	CAI
	III	CAI	CAM	SGI	SGM
	IV	SGM	CAI	CAM	SGI
3	I	SGI	SGM	CAI	CAM
	II	CAM	SGI	SGM	CAI
	III	CAI	CAM	SGI	SGM
	IV	SGM	CAI	CAM	SGI
4	I	SGI	SGM	CAI	CAM
	II	CAM	SGI	SGM	CAI
	III	CAI	CAM	SGI	SGM
	IV	SGM	CAI	CAM	SGI
5	I	SGI	SGM	CAI	CAM
	II	CAM	SGI	SGM	CAI
	III	CAI	CAM	SGI	SGM
	IV	SGM	CAI	CAM	SGI
6	I	SGI	SGM	CAI	CAM
	II	CAM	SGI	SGM	CAI
	III	CAI	CAM	SGI	SGM
	IV	SGM	CAI	CAM	SGI
7	I	SGI	SGM	CAI	CAM
	II	CAM	SGI	SGM	CAI
	III	CAI	CAM	SGI	SGM
	IV	SGM	CAI	CAM	SGI
8	I	SGI	SGM	CAI	CAM
	II	CAM	SGI	SGM	CAI
	III	CAI	CAM	SGI	SGM
	IV	SGM	CAI	CAM	SGI

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 A gordura do leite

A gordura é o constituinte do leite mais sensível a alterações decorrentes da alimentação. As indústrias se preocupam em analisar o leite recebido para verificar a sua concentração em gordura, pois, industrialmente a gordura possui uma grande importância, pois é a matéria-prima para a elaboração da manteiga, além de entrar como um dos principais componentes de certos produtos como o queijo, requeijão, sorvete, doce de leite, iogurte entre outros. A gordura confere aos produtos sabor, aroma, untuosidade, melhora a consistência, a aparência geral, contribui com a coloração amarelada, etc. As porcentagens de gordura encontradas em todos os tratamentos estavam acima do limite mínimo de 3% estabelecido no Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo C que fixa os requisitos mínimos que devem ser observados para este tipo de leite. Este regulamento está contido no Anexo III da Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002 (Brasil, 2002). Isto demonstra que as fontes de lipídeos utilizadas nesse experimento não influenciaram no conteúdo considerado normal de gordura para o leite.

### 4.2 Perfil dos ácidos graxos da gordura do leite

Devido à síntese de gordura do leite ser um processo dinâmico, modificações na dieta podem alterar as proporções dos ácidos graxos disponíveis para esse procedimento. É importante lembrar que a gordura do leite é constituída basicamente por triacilgliceróis sintetizados nas células epiteliais da glândula mamária, sendo que os ácidos graxos que os compõem são originados diretamente da dieta e ou mobilizados das reservas corporais, e da síntese *de novo* de ácidos graxos. Segundo Palmquist & Jenkens (1980), sua origem pode

ser assim distribuída: 50% é proveniente da síntese de ácidos graxos na glândula mamária a partir de precursores metabólicos (principalmente acetato e butirato); 40% deriva diretamente da gordura dietética absorvida através do intestino e 10% é procedente do tecido adiposo do animal.

As concentrações médias dos ácidos graxos individuais presentes na gordura do leite para cada um dos tratamentos estão apresentados na Tabela 5. De modo geral, as médias obtidas para os ácidos graxos pesquisados neste experimento se encontram dentro das faixas de variação apresentadas por vários autores (Steele et al.1971; Abreu, 1993; Harrison, 1995; Pinto, 2000; Santos, 1999; Chouinard et al., 2001, Medeiros, 2002)

Quando se compara o processamento físico (moagem dos grãos) das fontes lipídicas observa-se que houve efeito dos tratamentos sobre a concentração de  $C_{14:0}$ ,  $C_{14:1}$ ,  $C_{16:1}$  e  $C_{18:1}$ . A forma na qual o lipídeo esteve disponível no rúmen, protegido no interior da semente (inteira) ou mais livre (moída), afetou o conteúdo destes ácidos graxos, em parte pela influencia direta das taxas desses ácidos graxos nos suplementos lipídicos presentes nas rações e por outra devido aos fatores metabólicos como biohidrogenação e ação de enzimas dessaturantes.

Houve uma redução ( $P<0,01$ ) no conteúdo de  $C_{14:0}$  e uma tendência na redução de  $C_{16:0}$  e  $C_{18:0}$  quando as fontes foram moídas. Essa redução foi compensada pelo aumento ( $P<0,01$ ) no teor de  $C_{14:1}$ ,  $C_{16:1}$  e  $C_{18:1}$ . Uma explicação plausível para este comportamento é admitir uma maior ação da Delta-9 dessaturase sobre ácidos graxos saturados. De fato, para compensar o baixo conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) no leite, e não comprometer a sua fluidez, a atividade da Delta-9-dessaturase é elevada no epitélio intestinal e células secretoras da glândula mamária, particularmente transformando  $C_{18:0}$  em  $C_{18:1}$ , sendo que outros ácidos graxos de cadeia média também podem ser insaturados (Grummer, 1991).

TABELA 5 Perfil dos ácidos graxos presentes na gordura do leite nos diferentes tratamentos.

Acido graxo		SGI	SGM	CAI	CAM
Butírico	(C <sub>4:0</sub> )	3,09 a	3,04 ab	2,85 bc	2,79 c
Capróico	(C <sub>6:0</sub> )	2,33 a	2,12 a	2,24 a	2,09 a
Caprílico	(C <sub>8:0</sub> )	1,21 a	1,15 a	1,36 a	1,01 a
Cáprico	(C <sub>10:0</sub> )	2,17 a	2,04 a	1,94 a	1,98 a
Láurico	(C <sub>12:0</sub> )	2,83 a	2,51 ab	2,60 ab	2,21 b
Tridecanóico	(C <sub>13:0</sub> )	0,12 a	0,11 a	0,13 a	0,12 a
Mirístico	(C <sub>14:0</sub> )	8,43ab	7,07 c	9,39 a	7,52 bc
Miristoléico	(C <sub>14:1</sub> )	1,07ab	1,25 a	0,61 b	1,11 a
Pentadecanóico	(C <sub>15:0</sub> )	0,86 a	0,78ab	0,71 ab	0,68 b
Palmítico	(C <sub>16:0</sub> )	26,28 b	25,37 b	29,11 a	28,68 a
Palmitoléico	(C <sub>16:1</sub> )	1,09 b	1,59 a	1,15 b	1,58 a
Heptadecanóico	(C <sub>17:0</sub> )	0,73 a	0,68 a	0,77 a	0,69 a
Estearíco	(C <sub>18:0</sub> )	16,12 a	15,61 ab	15,50 ab	14,15 b
Oléico	(C <sub>18:1</sub> )	28,05 b	31,19 a	26,91 c	30,80 a
Linoléico	(C <sub>18:2</sub> )	3,22 a	2,83 ab	2,51 b	2,28 b
Linolênico	(C <sub>18:3</sub> )	0,95 a	0,89 ab	0,86 ab	0,77 b
CLA	(C <sub>18:2</sub> )	0,91 b	1,25 a	0,87 b	1,07 a
Araquídico	(C <sub>20:0</sub> )	0,54 a	0,52 a	0,49 a	0,48 a

Médias seguidas por letras iguais, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,01$ ) (SGI = soja em grão inteiro; SGM = soja em grão moído; CAI = caroço de algodão inteiro CAM = caroço de algodão moído).

Ainda em relação ao processamento físico das fontes de lipídeos, quando as vacas foram alimentadas com as dietas SGI e CAI tiveram uma tendência a apresentar maiores valores de C<sub>18:0</sub> e resultaram em menor conteúdo de C<sub>18:1</sub> ( $P <$



0,01). Estes resultados indicam que os ácidos graxos insaturados destas dietas sofreram biohidrogenação mais completa pelas bactérias do rúmen. Alguns autores (Steele et al., 1971; Mohamed et al., 1988; Pires, 1997) têm afirmado que quando o óleo é fornecido como parte de uma semente inteira este é introduzido no rúmen de forma mais gradual permitindo uma biohidrogenação mais extensa, devido ao maior tempo de permanência deste óleo em contato com os microrganismos do rúmen em função da sua menor digestibilidade.

O efeito mais expressivo das fontes de lipídeos, quando comparadas entre si, independente da forma física, foi observado apenas quanto ao conteúdo de  $C_4$  e  $C_{16:0}$ . O aumento de  $C_{16:0}$  da gordura do leite está positivamente relacionado com o conteúdo deste ácido graxo no suplemento alimentar (Grummer, 1991). Portanto, as diferenças encontradas neste trabalho sugerem que houve maior absorção desse último ácido graxo quando a dieta continha caroço de algodão pela maior ingestão, e conseqüentemente mais  $C_{16:0}$  secretado no leite.

O total de ácido linoléico foi maior para os animais do tratamento com SGI quando comparada com CAI. Este resultado foi surpreendente visto que ambas as fontes possuem igual teor deste ácido graxo. É razoável supor que antes que todas as células dos grãos sejam atacadas no rúmen, algumas deverão passar intactas ao longo do trato digestivo onde, no intestino o óleo não modificado deverá ser esterificado e absorvido. Portanto, maior percentual de  $C_{18:2}$  (e outros ácidos de cadeia longa e insaturada) presente no leite destes animais demonstraram maior proteção dos triacilgliceróis contidos no grão de soja em relação ao caroço de algodão. Este efeito não foi observado quando os grãos de ambas as fontes eram moídos.

A Tabela 6 mostra a composição dos perfis de ácidos graxos do leite de vacas que receberam suplemento lipídico na dieta separados por tipo de ligação e tamanho da cadeia.

TABELA 6 Composição dos perfis de ácidos graxos presentes na gordura do leite nos diferentes tratamentos separados por tamanho da cadeia e tipo de ligação.

Ácidos graxos (%)	Tratamentos			
	SGI	SGM	CAI	CAM
Cadeia curta (C <sub>4</sub> a C <sub>12</sub> )	11,63 a	10,86 ab	10,99 ab	10,07 b
Cadeia média (C <sub>13</sub> a C <sub>16</sub> )	37,85 b	36,17 b	41,10 a	39,69 a
Cadeia longa (C <sub>18</sub> a C <sub>20</sub> )	50,52 b	52,97 a	47,91 c	50,24 b
Saturados	64,71 b	61,00 d	67,09 a	62,39 c
Insaturados	35,29 c	39,00 a	32,91 d	37,61 b
Monoinsaturados	29,83 b	34,04 a	28,67 c	33,51 a
Poliinsaturados	5,14 a	5,23 a	4,05 b	4,12 b
Insaturados/Saturados	0,54 b	0,64 a	0,49 c	0,60 a

Médias seguidas por letras iguais, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P ≤ 0,01) (SGI = soja em grão inteiro; SGM = soja em grão moído; CAI = caroço de algodão inteiro CAM = caroço de algodão moído).

#### 4.2.1 Ácidos graxos de cadeia curta (C<sub>4</sub> a C<sub>12</sub>)

A gordura do leite apresenta concentrações mais elevadas de ácidos graxos de cadeia curta quando comparado com outros alimentos. A totalidade dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) provém da síntese *de novo* a partir de precursores absorvidos do sangue. Nos ruminantes estes precursores são principalmente acetato e β-hidroxibutirato (Chilliard, 2000).

Como pode ser visto na Tabela 6, não houve diferença entre as médias obtidas para o conteúdo dos AGCC quando se compara as fontes de lipídeos ou a forma física utilizada. Os resultados obtidos sugerem que a liberação do óleo dessas fontes no rúmen não provocou efeito tóxico sobre as bactérias celulolíticas, o que prejudicaria a produção de precursores no rúmen, reduzindo a síntese *de novo* dos ácidos graxos na glândula mamária. Vários estudos

(Smith, et al., 1981; Grummer, 1991; Palmquist & Weiss, 1994; Chouinard et al., 1997; Santos, 1999) tem demonstrado que as proporções de ácidos graxos de cadeia curta e média sintetizados pela síntese *de novo* decresce linearmente quando lipídeos suplementares são fornecidos à vacas em lactação e que a maior parte dessa inibição é devido a efeitos específicos sobre a glândula mamária mediados pelo incremento da ingestão de ácidos graxos de cadeia longa. Essas alterações no conteúdo de AGCC são causadas pela inibição direta da atividade da acetil-CoA carboxilase e da ácido graxo sintetase da glândula mamária por algumas substâncias produzidas pelo rúmen. Diversos autores (Grinari et al., 1998; Piperova et al.; 1998, Chouinard et al., 2001) têm demonstrado que estas substâncias são os ácidos graxos trans 18:1, originados da biohidrogenação parcial de ácidos graxos poliinsaturados no rúmen, e que sua presença causaria redução na síntese *de novo*. De fato houve uma tendência de que os tratamentos com grãos moídos, cujos ácidos graxos sofreram relativamente maior biohidrogenação parcial, apresentassem menores teores de AGCC (Figura 6), ainda que suas médias não diferissem estatisticamente. Foram obtidos desses tratamentos maior conteúdo de C<sub>18:1</sub> (p<0,01) embora os isômeros *trans* não tenham sido mensurados em função da coluna cromatográfica utilizada.

Os ácidos graxos de cadeia curta são responsáveis por boa parte do aroma e sabor em derivados lácteos por serem voláteis, além de contribuírem para redução no ponto de fusão do lipídeo onde estão presentes. Para produção de queijos a presença desses ácidos graxos se torna particularmente importante, onde contribuem decisivamente com seus aromas característicos após hidrólise dos triacilgliceróis onde estão esterificados, por ação das lipases naturais do leite ou adicionadas. Esta hidrólise é parcial, sendo mais afetada pela concentração de enzimas do que pela concentração de substrato (Abreu, 1993). Assim, todas as concentrações encontradas nesse estudo são suficientes para assegurar uma saturação das lipases presentes na massa do queijo elaborado com esse leite.

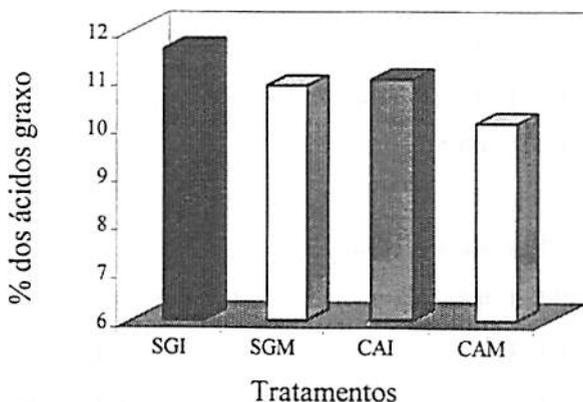


FIGURA 6 Efeito das fontes de lipídeos sobre a porcentagem dos ácidos graxos de cadeia curta da gordura do leite (SGI = soja em grão inteiro; SGM = soja em grão moído; CAI = caroço de algodão inteiro CAM = caroço de algodão moído).

A qualidade da manteiga, indicada por suas propriedades reológicas, depende essencialmente, da composição e qualidade da gordura do leite, que por sua vez está influenciada pelo tipo de ácidos graxos que a compõe e a distribuição destes nos triacilgliceróis. A manutenção dos teores normais de ácidos graxos de cadeia curta na gordura do leite é importante para prover uma adequada proporção de triacilgliceróis de baixo ponto de fusão garantindo uma consistência normal e uma textura mais fina, o que confere uma maior capacidade de espalhamento da manteiga além de contribuir para o aroma e sabor natural deste produto. A presença desses ácidos graxos reduz o ponto de fusão da manteiga tornando-a mais espalhável ao ser retirada do refrigerador. Efeito semelhante pode ser conseguido pelo incremento no teor de ácidos graxos insaturados (Hillbrick & Augustin, 2002).

Pode-se então finalizar deduzindo que a manutenção nos teores dos AGCC no leite é devido a menor interferência na sua síntese pelas células da glândula mamária e que as fontes de lipídeos utilizadas nesse trabalho não acarretariam prejuízos, quer seja no aroma e sabor de produtos lácteos, quer seja no ponto de fusão da gordura do leite.

#### 4.2.2 Ácidos graxos de cadeia média (C<sub>13</sub> a C<sub>16</sub>)

Calcula-se que menos da metade destes ácidos graxos utilizados na síntese de triacilgliceróis da gordura do leite é originada da síntese *de novo* nas células epiteliais da glândula mamária e a outra metade é derivada dos lipídeos do sangue que por sua vez são provenientes da dieta ou deslocados dos tecidos armazenadores de gordura.

Os dados referentes ao conteúdo de ácidos graxos de cadeia média, obtidos neste experimento estão demonstrados na Tabela 6 e representados na Figura 7. A análise de variância dos dados mostra que houve diferença ( $p < 0,01$ ), entre as fontes de lipídeos utilizadas. As maiores médias atribuídas ao caroço de algodão refletem principalmente a maior concentração de C<sub>16:0</sub> na gordura do leite provenientes dessas dietas. Este resultado poderia ser explicado considerando-se que a transferência de ácidos graxos da dieta estaria sendo mais expressiva do que a influência na síntese *de novo*, já que o caroço de algodão é mais rico em ácidos graxos de cadeia média que a soja. Grummer (1991), afirma que a extensão da depressão no conteúdo de C<sub>16:0</sub> da gordura do leite parece ser negativamente relacionada com o conteúdo de C<sub>16:0</sub> do suplemento alimentar.

Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre as médias obtidas para o modo de fornecimento dos grãos. Ou seja, o processamento físico promovido nos grãos não alterou o conteúdo total dos ácidos graxos de cadeia média na gordura do leite. A redução no conteúdo de C<sub>14:0</sub> quando as fontes eram moídas foi compensada pelo aumento do conteúdo de C<sub>14:1</sub> e, principalmente de C<sub>16:1</sub>.

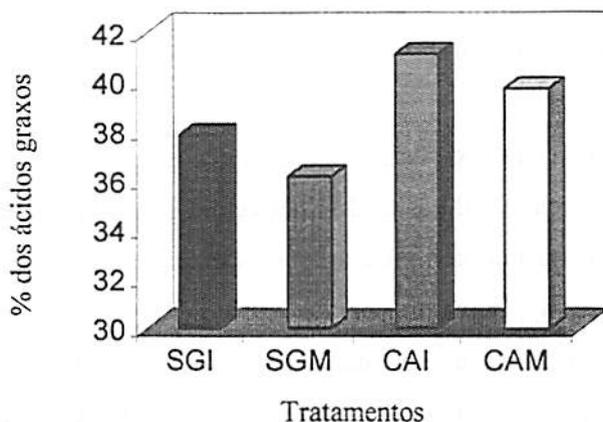


FIGURA 7 Efeito das fontes de lipídeos sobre a porcentagem dos ácidos graxos de cadeia média da gordura do leite. (SGI = soja em grão inteiro; SGM = soja em grão moído; CAI = caroço de algodão inteiro CAM = caroço de algodão moído).

Dentre os ácidos graxos de cadeia média, os ácidos mirístico ( $C_{14:0}$ ) e palmítico ( $C_{16:0}$ ) são os dois principais envolvidos no aumento da LDL, um fator de risco de doenças coronárias (Hillbrick & Augustin, 2002). Dessa forma, a redução nos níveis desses ácidos graxos é desejável do ponto de vista nutricional o que pode ser conseguido pela utilização de lipídeos processados (moídos) na alimentação das vacas leiteiras, em particular do grão de soja tostada.

#### 4.2.3 Ácidos graxos de cadeia longa ( $C_{18}$ a $C_{20}$ )

Os ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) que compõem a gordura do leite são derivados exclusivamente da corrente sanguínea que irrigam as células epiteliais lactígenas da glândula mamária. O conteúdo desses ácidos graxos, portanto, é bastante influenciado pelo perfil das fontes de lipídeos provenientes

da dieta. No presente trabalho foram utilizadas sementes oleaginosas ricas em ácidos graxos de cadeia longa, em particular o oléico e linoléico, que conseqüentemente provocaram alterações importantes nesta categoria de ácidos graxos.

As dietas contendo as fontes de lipídeos que foram submetidas ao processo de moagem (SGM e CAM) obtiveram maiores médias ( $p < 0,01$ ) na soma dos AGCL quando comparada àquelas constituídas de sementes inteiras (Tabela 6 e Figura 8). Os valores para o ácido oléico ( $C_{18:1}$ ) e CLA foram mais elevados para os animais suplementados com SGM e CAM e isso contribuiu de forma decisiva para o aumento na proporção de AGCL. É possível que o processo de moagem tenha reduzido a proteção natural da semente causando uma maior liberação do óleo aumentando a área de superfície disponível para degradação microbiana.

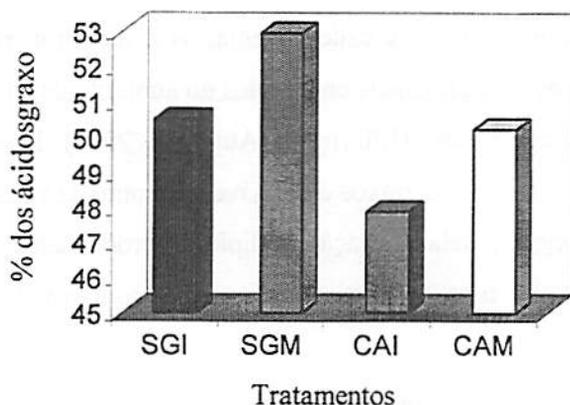


FIGURA 8 Efeito das fontes de lipídeos sobre a porcentagem dos ácidos graxos de cadeia longa da gordura do leite. (SGI = soja em grão inteiro; SGM = soja em grão moído; CAI = caroço de algodão inteiro CAM = caroço de algodão moído).

Houve diferença ( $p < 0,01$ ) também entre as fontes de lipídeos independentemente da forma física, sendo que as dietas contendo soja em grão apresentaram maiores médias em relação às dietas com caroço de algodão. Pode-se deduzir destes resultados que os ácidos graxos da dieta, sofrendo ou não a biohidrogenação, teve forte influência na composição dos ácidos graxos da gordura, já que a soja possui comparativamente maior teor de ácidos graxos de cadeia longa que o caroço de algodão (84,4% e 71%, respectivamente). Grummer (1991) mostrou que as proporções de  $C_{18:0} + C_{18:1}$  na gordura do leite aumentou a medida que o lipídeo suplementar cresceu de 1 para 5% da matéria seca do alimento e que estes aumentos são maiores para soja quando comparada ao algodão. O autor afirma que as mudanças nos ácidos graxos  $C_{18}$  no leite são dependentes das relações de  $C_{18}$  nas gorduras suplementadas.

#### **4.2.4 Ácidos graxos de cadeia saturada e insaturada**

Na atualidade o consumo de produtos lácteos tem sofrido restrições em grande parte por estar associado à ingestão de ácidos graxos saturados. Este tipo de lipídeo tem sido associado com o aumento do colesterol sanguíneo e sua implicação na incidência de doenças cardiovasculares. A gordura do leite contém normalmente alto nível de lipídeo saturado (60 a 70%), e este perfil tende a manter uma independência em relação ao lipídeo suplementar em consequência das transformações ocorridas no rúmen (Oliveira, 2002). As pesquisas na área da manipulação da dieta de vacas em lactação têm se intensificado buscando uma redução nos níveis de ácidos graxos saturados e conseqüentes incrementos nos ácidos graxos poliinsaturados. Essas modificações passam necessariamente por alterações no metabolismo ruminal onde estes ácidos são metabolizados. O aspecto fundamental que afeta a composição de ácidos graxos disponíveis para a glândula mamária é a

biohidrogenação promovida por algumas bactérias ruminais e a atuação da Delta-9 dessaturase no intestino e glândula mamária.

Os resultados referentes aos ácidos de cadeia saturada e insaturada encontram-se na Tabela 6 e melhor representadas na Figura 9. Houve diferença ( $p < 0,01$ ) entre os tratamentos. Os resultados demonstram maior concentração de ácidos graxos saturados nas fontes que não sofreram processamento físico de moagem (grãos inteiros). Ou seja, os ácidos graxos liberados das sementes inteiras sofreram uma biohidrogenação mais extensa no interior do rúmen produzindo maior conteúdo de ácidos graxos saturados devido ao maior tempo de permanência deste óleo em contato com os microrganismos ruminais em função da sua menor degradabilidade. As fontes contendo grãos moídos elevaram significativamente ( $p < 0,01$ ) o conteúdo de ácidos graxos insaturados na gordura do leite. Este resultado pode ser parcialmente atribuído ao escape de alguns ácidos graxos insaturados do completo processo de biohidrogenação em função da rápida passagem dos lipídeos da dieta provenientes desses tratamentos. Estes resultados são importantes sob o ponto de vista nutricional, pois a maior ingestão de lipídeos insaturados em relação aos saturados reduz o colesterol e em alguns casos aumenta o teor de HDL (Hunk & Funk, 1992; Brousseau et al., 1993; Mazier & Jones, 1997; Hillbrick & Augustin, 2002).

Embora a maioria dos ácidos graxos da gordura do leite sejam saturados, nem todos eles exercem o mesmo efeito no colesterol sanguíneo. Como referido anteriormente, diferentes ácidos graxos podem diminuir, aumentar ou não ter efeito algum sobre os níveis de colesterol do sangue. Estima-se que, mesmo se toda a gordura da dieta fosse originária do leite, o efeito nos teores de colesterol total e de LDL seria baixo (Brandão & Alvim, 2002).

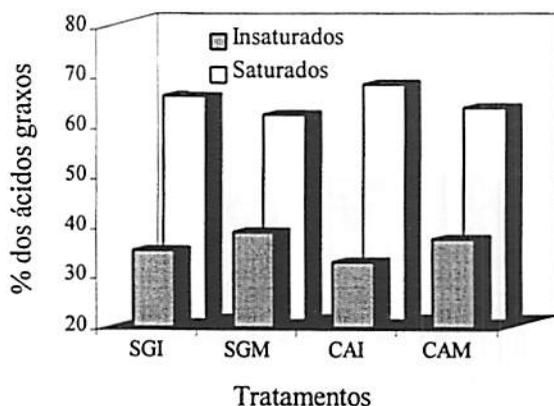


FIGURA 9 Efeito das fontes de lipídeos sobre a porcentagem dos ácidos graxos de cadeia saturada e insaturada da gordura do leite (SGI = soja em grão inteiro; SGM = soja em grão moído; CAI = caroço de algodão inteiro CAM = caroço de algodão moído).

Quando se comparam as fontes de lipídeos, independente da forma física, observa-se maior conteúdo de ácidos graxos insaturados na gordura do leite dos animais alimentados com soja que com caroço de algodão. Esse efeito pode ter ocorrido em função do maior conteúdo desses ácidos graxos na soja promovendo maior aporte desses compostos para a glândula mamária e elevando, com isso, seus teores no leite. Com base nestes dados, podemos inferir que o leite das dietas contendo SGM e CAM poderão favorecer a redução do colesterol sanguíneo nos consumidores, provocando um impacto positivo sob o ponto de vista nutritivo, quando comparado com o leite proveniente das dietas contendo sementes inteiras. A Figura 10 mostra a relação entre os ácidos graxos insaturados e os saturados. Este índice indica com maior clareza o comportamento das dietas onde se observa uma previsível relação inversa entre eles, ou seja, o aumento de um leva a uma redução proporcional do outro. Neste aspecto houve diferença significativa ( $p < 0,01$ ) entre todos os tratamentos.

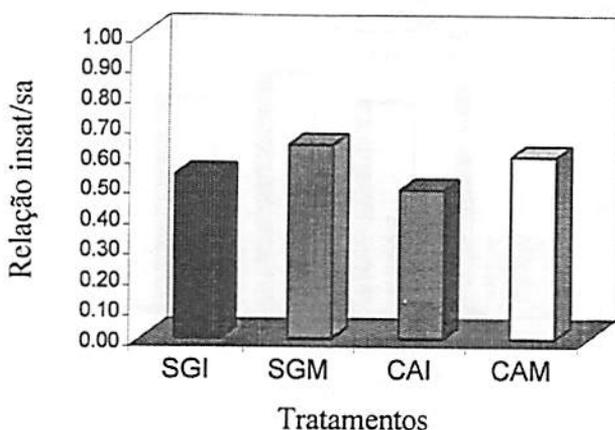


FIGURA 10 Efeito das fontes de lipídeos sobre a relação entre os ácidos graxos insaturados e os de cadeia saturada da gordura do leite (SGI = soja em grão inteiro; SGM = soja em grão moído; CAI = caroço de algodão inteiro CAM = caroço de algodão moído).

#### 4.2.5 Ácidos graxos de cadeia monoinsaturada e poliinsaturada

Dos ácidos graxos monoinsaturados, o principal é o ácido oléico, presente no óleo de sementes oleaginosas. Os principais efeitos dos monoinsaturados são redução do colesterol total e LDL (sem reduzir o HDL), inibição da agregação plaquetária e da ação trombótica. Os ácidos graxos poliinsaturados promovem a excreção do colesterol por meio dos ácidos biliares, redistribui o colesterol entre o sangue e os tecidos, reduz a capacidade do LDL de carregar o colesterol e aumenta o número de receptores de LDL. Entre os poliinsaturados, o ácido linoléico é o de maior consumo e o mais abundante, além de ser considerado, juntamente com o linolênico, ácido graxo essencial para o ser humano (Banni et al., 1995; Mazier & Jones, 1997).

Durante o “Wisconsin Milk Marketing Board” em 1988, pesquisadores da indústria e do meio acadêmico concluíram que a gordura ideal, do ponto de

vista nutricional, deveria conter 10% de ácidos graxos poliinsaturados, 8% de ácidos graxos saturados, e o restante (82%) formado por ácidos graxos monoinsaturados (Grummer, 1991). Ao se comparar à composição da gordura do leite obtida no presente trabalho pode-se verificar que ocorreu um incremento nos ácidos graxos poliinsaturados quando os animais foram alimentados com grãos de soja independente da forma como essa foi utilizada (Tabela 6). Entretanto, constata-se ainda uma grande diferença existente entre a gordura ideal e aquela encontrada neste experimento (Figura 11). Em relação aos monoinsaturados esta diferença é ainda maior considerando que os maiores valores obtidos ocorreram com o uso de fontes moídas tanto para a soja (34,04%) quanto para o caroço de algodão (33,51%). No entanto, estes valores são superiores aos encontrados normalmente no leite em dietas típicas com ausência de lipídeos suplementares.

Kennely & Glimm (1998) sugerem que um aceitável perfil de ácidos graxos não requer mudanças tão extremas na composição dos ácidos graxos da gordura do leite como aquelas propostas pelo “Wisconsin Milk Marketing Board”, mas que a produção de leite com menor teor de gordura seria desejável. Segundo esses autores, conceitos adicionais com relação às novas evidências dos efeitos individuais de cada ácido graxo sobre a saúde do consumidor deve ser levado em consideração na composição ideal desse perfil. O interesse no conteúdo de CLA, por exemplo, seria mais evidente que mudanças na taxa de saturados para insaturados.

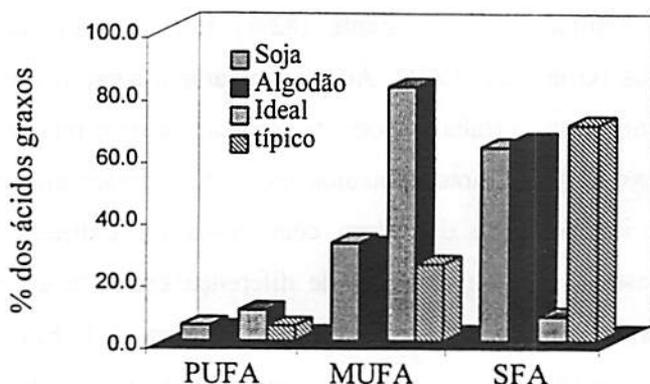


FIGURA 11 Grupo de ácidos graxos obtidos nesse experimento comparado com o típico do leite e aquele considerado nutricionalmente ideal pelos participantes do “Wisconsin Milk Marketing Board” 1988. (PUFA = ácidos graxos poliinsaturados; MUFA = monoinsaturados e SFA = saturados).

#### 4.3 Efeito dos tratamentos sobre o conteúdo de CLA da gordura do leite

O conteúdo de CLA médio encontrado no leite varia entre 0,3 e 0,6% do total de ácidos graxos. Existem diferentes estratégias para elevação do teor desse composto no leite, incluindo o uso de fontes de lipídeos ricos em ácidos graxos insaturados como os óleos vegetais. Os CLA são produzidos em parte pelo processo de biohidrogenação parcial do ácido linoléico e do ácido linolênico no rúmen. O método de processamento da semente oleaginosa influencia no grau e extensão da biohidrogenação e, portanto no conteúdo de CLA da gordura do leite (Dhiman et al., 2000). As fontes de sementes oleaginosas utilizadas neste trabalho têm como principal ácido graxo o ácido linoléico, com a soja tendo ainda elevados teores de ácido linolênico. Estes ácidos graxos são os principais precursores do CLA na glândula mamária.

Os resultados demonstram que o conteúdo de CLA foi aumentado quando vacas foram alimentadas com dietas contendo grãos moídos tanto para a soja (37,36%) como para o algodão (22,9%), devido, provavelmente, a maior exposição dos seus precursores ( $C_{18:2}$  e  $C_{18:3}$ ) à biohidrogenação incompleta no rúmen (Figura 12). Como visto anteriormente este tipo de dieta fica menos tempo sob ação dos microorganismos do rúmen produzindo um número elevado de intermediários, incluindo entre eles o CLA. Dhiman et al. (2000) verificaram incrementos no teor de CLA quando utilizaram soja tostada moída e óleo de soja em experimento conduzido para determinar o conteúdo de CLA no leite de vacas alimentadas com dietas ricas em ácidos linoléico e linolênico. Os conteúdos médios foram 0,39% para o controle e 0,77% e 2,10% do total de ácidos graxos na soja moída e óleo de soja respectivamente. Esses autores concluíram que dietas ricas nestes ácidos graxos podem aumentar o teor de CLA no leite quando os lipídeos da dieta estão acessíveis aos microorganismos do rúmen.

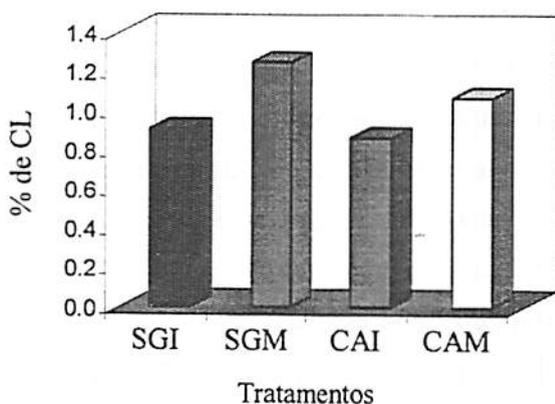


FIGURA 12 Efeito das fontes de lipídeos sobre o conteúdo de Ácido Linoléico Conjugado (CLA) da gordura do leite (SGI = soja em grão inteiro; SGM = soja em grão moído; CAI = caroço de algodão inteiro CAM = caroço de algodão moído).

Vacas em regime de pasto foram suplementadas com soja moída tostada produzindo significativamente mais CLA na gordura do leite (2,23%) quando comparadas com vacas sob a dieta controle (1,74%) que não continha nenhuma suplementação com lipídeos (Lawless et al., 1998).

Em um dos seus experimentos Chouinard et al. (2001) examinaram o efeito de diferentes dietas suplementadas com lipídeos e métodos de processamento sobre o conteúdo de CLA. O tratamento térmico aplicado às sementes de soja resultou em duas a três vezes mais CLA na gordura do leite que a dieta controle composta de soja crua moída. Esses tratamentos térmicos aplicados às sementes oleaginosas tornam-nas mais frágeis e como resultado, aumenta a liberação do óleo do interior da semente. Também houve uma tendência de queda nos valores de  $C_{18:2}$  e  $C_{18:3}$  para os tratamentos que continham as fontes moídas. Ao mesmo tempo houve aumento significativo ( $p < 0,001$ ) para o conteúdo de  $C_{18:1}$  para estes tratamentos, indicando possivelmente uma maior produção de intermediários da biohidrogenação, em especial do ácido vacênico (18:1 trans 11), responsáveis pelo maior conteúdo na síntese de CLA.

Resultados similares foram encontrados por Santos et al. (2000), em seu trabalho sobre a verificação dos efeitos de soja tostada inteira e óleo de soja adicionado a dietas de vacas leiteiras, sobre o perfil de ácidos graxos. Estes autores verificaram que o tratamento com óleo de soja na forma livre decresceu o conteúdo de ácido linoléico e linolênico e aumentou o teor de CLA ( $p < 0,01$ ) quando comparado com a soja em grão inteiro.

Este CLA absorvido após escapar da completa biohidrogenação no rúmen é apenas uma das formas de produção do CLA. A maior fonte (cerca de 70 a 80%) é a síntese endógena catalisada pela delta-9-dessaturase tendo como substrato o trans 11  $C_{18:1}$ , outro intermediário da incompleta biohidrogenação ruminal (Chouinard et al., 2001).

As Figuras 13 e 14 mostram os cromatogramas do perfil dos ácidos graxos da gordura do leite, na forma de metil ésteres, obtidos por Cromatografia Gás-Líquida dos animais alimentados com soja e caroço de algodão respectivamente. Os picos estão indicados na Figura 13(a) seguindo a mesma seqüência para as demais. Pode-se observar em destaque os picos de CLA obtidos nos respectivos cromatogramas.

Um leite de boa qualidade é, cada vez mais uma garantia de permanência no mercado para os produtores leiteiros, uma necessidade da indústria de laticínios e uma exigência do mercado consumidor. O pagamento do leite pelas indústrias até há pouco tempo, levava em consideração somente o volume recebido e sua concentração em gordura. Entretanto, recentemente a mudança dessa prática tem sido observada por alguns estabelecimentos, que já consideram outros indicadores que fazem parte de programas de pagamento pela qualidade. Entre esses parâmetros se destacam a contagem de mesófilos e de células somáticas e o índice crioscópico. No entanto, a determinação dos principais componentes do leite, os quais são fortemente relacionados com o rendimento industrial e com a qualidade do produto final, está entre aqueles que vem sendo mais utilizados como critério para uma melhor remuneração ao produtor. Acredita-se que no futuro próximo, outros parâmetros poderão ser utilizados, de forma que o leite produzido possa atender alguma exigência específica do mercado. O conteúdo de CLA no leite, por exemplo, poderá se tornar um forte argumento de marketing do leite, pois o mercado tem cada vez mais se voltado para produtos com propriedades nutracêuticas e, neste caso, o leite "enriquecido" com CLA, seria produzido diretamente pela vaca, sem manipulação pelos laticínios. Desse modo, o desenvolvimento de novas estratégias para manipular a composição química do leite através da alimentação é um fator que deve ser considerado nas pesquisas em nutrição de vacas leiteiras.

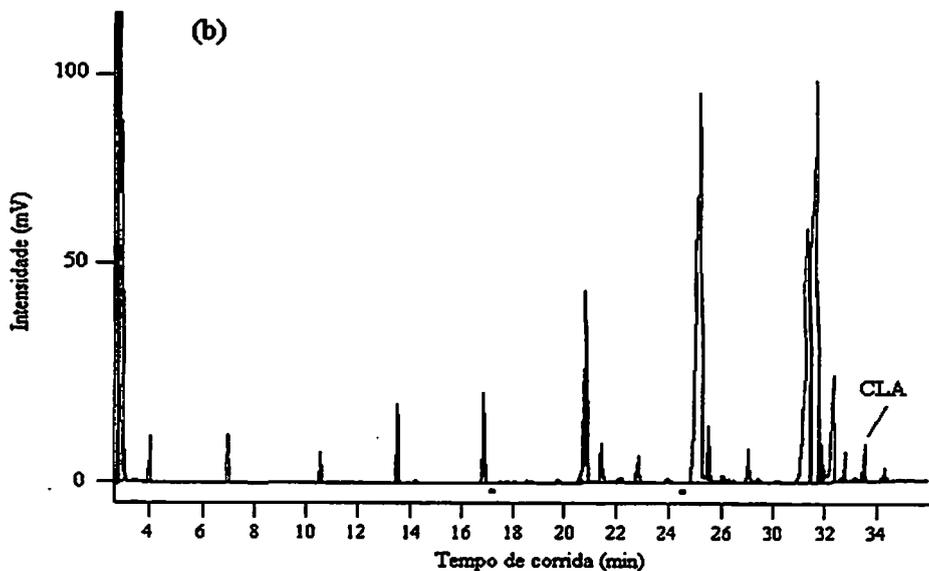
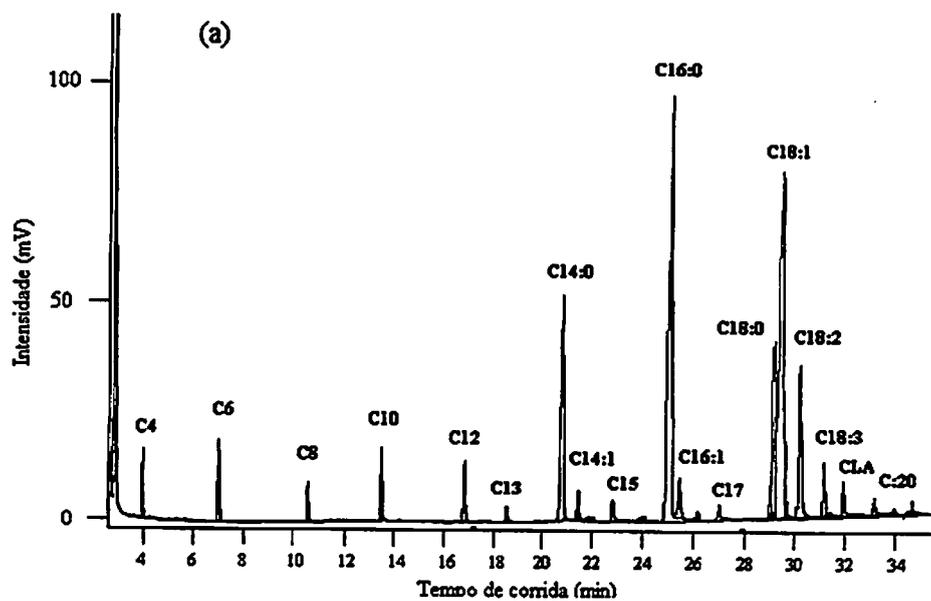


FIGURA 13 Cromatogramas do perfil dos ácidos graxos da gordura do leite, obtidos por Cromatografia Gás-Líquida (GLC) dos animais alimentados com soja em grão inteiro (a) e soja moída (b).

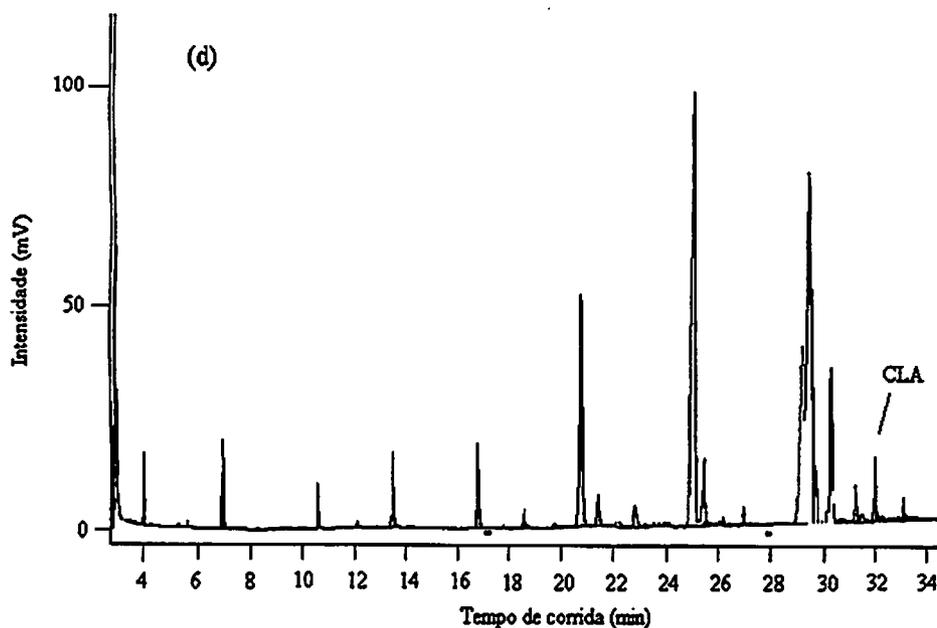
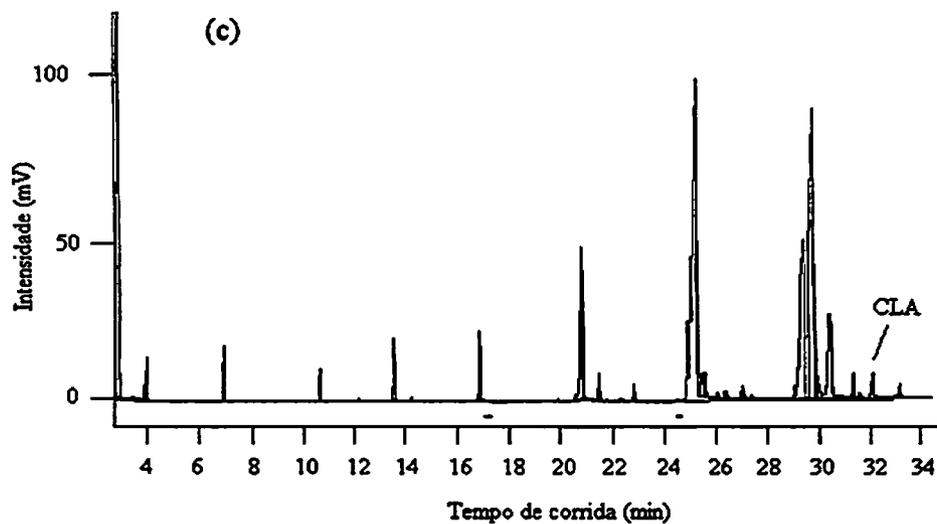


FIGURA 14 Cromatogramas do perfil dos ácidos graxos da gordura do leite, obtidos por Cromatografia Gás-Líquida (GLC) dos animais alimentados com caroço de algodão inteiro (c) e caroço de algodão moído (d).

## 5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e nas condições experimentais utilizadas nesse trabalho, pode-se concluir que:

- ✓ A utilização de fontes lipídicas moídas na dieta de vacas leiteiras reduziu o teor de ácido mirístico (C14:0) no leite e aumentou o conteúdo de ácido palmitoléico (C16:1) e oléico (C18:1) quando comparadas a fontes inteiras.
- ✓ A suplementação de lipídeos nas dietas de vacas com de caroço de algodão promoveu incrementos nos teores de ácido palmítico (C16:0)
- ✓ O uso de lipídeos nas dietas de vacas na forma de caroço de algodão e grãos de soja mantém os níveis de ácidos graxos de cadeia curta, responsáveis por boa parte do aroma e sabor em derivados lácteos.
- ✓ É possível, por meio da manipulação dietética de vacas leiteiras, aumentar a produção de ácidos graxos insaturados, com conseqüente redução da saturação da gordura do leite, trazendo benefícios para a saúde do consumidor.
- ✓ A suplementação através de fontes moídas de sementes oleaginosas na dieta de vacas leiteiras pode ser uma alternativa bastante interessante para elevar o nível de CLA no leite, nutriente reconhecido como essencial á saúde humana.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. R. **Factors affecting the biosynthesis of branched-chain fatty acids in milk fat.** 1993. 163 p. Thesis (Doctorate in Food Science) - University of Wisconsin, Madison.

BANNI, S.; DAY, B. W.; EVANS, R. W.; CORONGIO, P. F. P.; LOMBARDI, B. Detection of conjugated diene isomers of linoléico acid in liver lipids of rats fed a choline-devoid diet indicates that the diet does not cause lipoperoxidation. **Journal of Nutrition Biochemistry**, Woburn, v. 6, n. 5, p. 281-289, May 1995.

BAUCHART, D. Lipid absorption and transport in ruminants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 12, p. 3864-3881, Dec. 1993.

BLOWEY, R. W. Factors affecting milk quality. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. (Ed.). **Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle.** Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1992. p. 329-334.

BRANDÃO, S. C. C.; ALVIM, T. C. Manteiga e a saúde humana. **Food Ingredients**, São Paulo, v. 3, n. 17, p. 20-27, mar./abr. 2002.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Instrução Normativa Nº 51 de 18 de Setembro de 2002 da Secretaria de defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial.** (da República Federativa do Brasil) Brasília, Jun. 2002, p. 7-12.

BROUSSEAU, M. E.; STUCCHI, A. F.; VESPA, D. B.; SHAEFER, E. J.; NICOLOSI, R. J. A diet enriched in monounsaturated fats decreases low density lipoprotein concentrations in cynomolgus monkeys by a different mechanism than does a diet enriched in polyunsaturated fats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 123, n. 12, p. 2049-2058, Dec. 1993.

BUTOLO, J. E. Processamento e qualidade dos diferentes tipos de gordura. In: **Simpósio do C. B. N. A. Nutrição e Alimentação de Gado Leiteiro**, Valinhos, 1993.

**CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; MANSBRIDGE, M.; DOREAU, M.** Ruminant milk fat plasticity: Nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Annales Zootechnie, Paris*, v. 49, n. 3, p. 181-205, May/June 2000.

**CHOUINARD, P. Y.; BAUMAN, D. E.; BAUMGARD, M. A.** An update on conjugated linoleic acid. In: **CORNELL NUTRITIONAL CONFERENCE FEED MANUFACTORY, 1., 1999, Ithaca. Proceedings...** Cornell University, 1999. p. 93-101.

**CHOUINARD, P. Y.; GIRARD, V.; BRISSON, G. J.** Performance and profiles of milk fatty acids of cows fed full fat, heat-treated soybeans using various processing methods. *Journal of Dairy Science, Champaign*, v. 80, n. 2, p. 334-342, Feb. 1997.

**CHOUINARD, P. Y.; GIRARD, V.; BUTLER, W. R.; CHILLIARD, Y.; DRACKLEY, J. K.; BAUMAN, D. E.** Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *Journal of Dairy Science, Champaign*, v. 84, n. 3, p. 681-690, Mar. 2001.

**CHURCH, C. D.** Fermentación ruminal. In: ----. *El ruminante: fisiología digestiva y nutrición.* Zaragoza: Acribia, 1993. cap. 8, p. 159-189.

**DELGADO, E. F.** *Caroço de algodão e milho-grão, em diferentes formas físicas, na alimentação de vacas em lactação.* 1994. 89 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, MG.

**De PETERS, E. J.; CANT, J. P.** Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk. *Journal of Dairy Science, Champaign*, v. 75, n. 8, p. 2043-2070, Aug. 1992.

**DHIMAN, T. R.; SATTER, L. D.; PARIZA, M. W.; GALLI, M. P.; ALBRIGHT, K.; TOLOSA, M. X.** Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *Journal of Dairy Science, Champaign*, v. 83, n. 5, p. 1016-1027, Mar. 2000.

**EMERY, R. S.; HERDT, T. H.** Lipid nutrition. *The Veterinary Clinics of North America, Philadelphia*, v. 7, n. 2, p. 341-352, July 1991.

FELLNER, V.; SAUR, F. P. KRAMER, J. K. G. Steady-State rates of linoleic acid biohydrogenation by ruminal bacteria in continuous culture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 8, p. 1815-1823, Aug. 1995.

FERREIRA, D. F. **Sisvar – sistema de análise de variância**, Lavras: UFLA, 1999.

GREEN, M. L.; GRADISON, A. S. Secondary phase of rennet coagulation. In: FOX, P. F. **Cheese: chemistry, physics and microbiology-general aspects**. 2. ed. Chapman & Hall, 1993. v. 1, 601 p.

GRINARI, J. M.; CORL, B. A.; LACY, S. H.; CHOUNARD, P. Y.; NURMELA, K. V. V BAUMAN, D. E. conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by <sup>9</sup> d e saturase. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 130, n. 9, p. 2285-2291, Sept. 2000.

GRINARI, J. M.; DWYER, D. A.; MCGUIRE, M. A.; BAUMAN, D. E.; PALMQUIST, D. L.; NURMELA, K. V. V. *Trans*-octadecanoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 5, p. 1251-1261, May 1998.

GRUMMER, R. R. Effect of feed on the composition of milk fat. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 9, p. 3244-3257, Sept. 1991.

HA, Y. L.; STORKSON, J.; PARIZA, M. V. Inhibition of benzo [a] pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoléico acid. **Cancer Research**, Philadelphia, v. 50, n. 4, p. 1097-1101, Feb. 1990.

HARRIS Jr., B. **Feeding raw or heat treated soybeans to dairy cattle**. Florida, 1990. (Florida Extension Bulletin DS 28).

HARRISON, J. H.; KINCAID, R. L.; McNAMARA, J. P; WALTNER, S.; LONEY, K. A.; RILEY, R. E.; CRONRATH, J. D. Effect of whole cottonseeds and calcium salts of long-chain fatty acids on performance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 1, p. 181-193, Jan. 1995.

HUNT, C. E.; FUNK, M. G. Dietary polyunsaturated to saturated fatty acid ratio alters hepatic LDL transport in cynomolgus macaques fed low cholesterol diets. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 122, n. 8, p. 1960-1970, Aug. 1992.



HILBRICK, G.; AUGUSTIN, M. A. Milkfat characteristics and functionality: opportunities for improvement. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v. 57, n. 1, p. 45-51, Apr. 2002.

IP, C. CLA and cancer prevention. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON CLA, 1., 2001, Alesund. **Proceedings...** Alessund: NATURAL ASA, 2001. p. 6-7.

IP, C.; THOMPSON, M.; SINGH, M. E.; SCIMECA, J. A. Conjugated linoléico acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. **Cancer Research**, Philadelphia, v. 54, n. 5, p. 1212-1215, Mar. 1994.

JENKINS, T. C. fatty acid composition of milk from Holstein cows fed oleamid or canola oil. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 3, p. 794-800, Mar. 1998.

JENKINS, T. C.; BATEMAN, H. G.; BLOCK, S. M. Butylsoyamid increases unsaturation of fatty acids in plasma and milk of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, n. 2, p. 438-445, Feb. 1996.

KENNELLY, J. J.; GLIMM, D. R.; OZIMEK, L. Milk composition in the cow. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61., 1999, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1999. p. 1-21.

KENNELLY, J. J. & GLIMM, D. R. The biological potential to alter the composition of milk. **Canadian Journal of Animal Science**, Toronto, v. 78 p. 23-56 1998. Supplement, 1.

KIM HA, J.; LINDSAY, R. C. Method for the quantitative analysis of volatile free and total branched-chain fatty in cheese and milk fat. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, n. 8, p. 1988-1999, Aug. 1990.

LAWLESS, F.; MURPHY, J. J.; HARRINGTON, D.; DEVERY, R.; STANTON, C. Elevation of conjugated *cis*-9, *trans*-11-octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 12, p. 3259-3267, Dec. 1998.

LOOR, J. J.; HERBEIN, J. H. Exogenous conjugated linoléico acid isomers reduce bovine milk fat concentration and yield by inhibiting de novo fatty acid synthesis. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v. 128, n. 12, p. 2411-2419, Dec. 1998.

MALAFAIA, P. **A Consumo e digestão dos nutrientes, eficiência microbiana, produção e composição do leite em vacas alimentadas com rações contendo sebo bovino.** 1995. 95 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

MAZIER, P. M. J.; JONES, P. J. H. Diet fat saturation and feeding state modulate rates of cholesterol synthesis in normolipidemic men. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v. 127, n. 2, p. 332-340, Feb. 1997.

MEDEIROS, S. R. **Ácido linoléico conjugado: teores nos alimentos e seu uso no aumento da produção de leite com maior teor de proteína e perfil de ácidos graxos modificado.** 2002. 98 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP.

MEIRELLES, P. R. L. **Avaliação nutricional e cinética ruminal do caroço de algodão para vacas da raça holandesa em lactação.** 1992. 61 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, MG.

MIELKE, C. D.; SHINGHOETHE, D. J. Heat treated soybeans for lactating cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 64, n. 7, p. 1579-1585, July 1981.

MOHAMED, O. E.; SATTER, L. D.; GRUMMER, R. R.; EHLE, F. R. Influence of dietary cottonseed and soybean on milk production and composition. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 71, n. 10, p. 2677-2685, Oct. 1988

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.** Washington, DC. 2001. 381 p.

OLIVEIRA, S. G. **Utilização de fontes de gordura a dietas com diferentes níveis de fibra para vacas em lactação.** 2002. 65 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP

**PALMQUIST, D. L.** Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactation cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 4, p. 1354-1360, Apr. 1991.

**PALMQUIST, D. L.** Ruminal and endogenous synthesis of CLA in cows. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v. 56, n. 2, p. 134-137, 2001.

**PALMQUIST, D. L.** Suplementação de lipídeos para vacas em lactação. In: **SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES**, 6., 1989, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1989. p. 11-25.

**PALMQUIST, D. L.; BEAULIEU, A. D.; BARBANO, D. M.** Feed and animal factors influencing milk fat composition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 6, p. 1753-1771, June 1993.

**PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C.** fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, n. 1, p. 1-14, Jan. 1980.

**PALMQUIST, D. L.; WEISS, W. P.** blood and hydrolyzed feather meals as source of undegradable protein in high fat diets for cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 6, p. 1630-1651, June 1994.

**PARODI, P. W.** The anticarcinogenic effects of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, p. 230, 1998. Supplement, 1.

**PERES, J. R.** O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001. p. 30-45.

**PINTO, S. M.** **Produção e composição química do leite de vacas holandesas no início da lactação alimentadas com diferentes fontes de lipídeos**. 1997. 94 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

**PINTO, S. M.; ABREU, L. R.; TEIXEIRA, J. C.; MUNIZ, J. A.** Modificação no perfil dos ácidos graxos da gordura do leite através da alimentação de vacas leiteiras. **Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"**, Juiz de Fora, v. 54, n. 312, p. 40-45, jan./fev. 2000.

PIPEROVA, L. S.; TETER, B. B.; BRUCKENTAL, I.; SAMPUGNA, J.; ERDMAN, R. A. Association of diet induced increases in milk trans fatty acids with the activities of acetyl-CoA carboxilase and fatty acid synthetase in the mammary gland of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, p. 352, 1998. Supplement, 1.

PIRES, A. V.; EASTRIDG, M. L.; FIRKINS J. L.; LIN, Y. C. Effect of heat treatment and physical processing of cottonseed on nutrient digestibility and production performance by lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 8, p. 1685-1694, Aug. 1997.

SANTOS, F. L. **Efeito da suplementação de lipídeos na ração para produção de ácido linoléico conjugado (CLA) em leite de vacas.** 1999. 59 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SANTOS, F. L.; LANA, R. P.; SILVA M. T. C.; BRANDÃO, S. C. C.; VARGAS, L. H. Effect of lipids supplementation in the ration on production of conjugated linoleic acid (CLA) and milk fat composition of dairy cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 82, 2000. Supplement, 1.

SHULTZ, T. D.; CHEW, D. P.; SEAMAN, W. R.; LUEDECKE, L. O. Inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives of linoléico acid and  $\beta$ -carotene on the in vitro growth of human cancer cells. **Cancer Letter**, Clare, v. 63, n. 2, p. 125-132, Apr. 1992.

SMITH, N. E.; COLLAR, L. S.; BAHT, D. L. DUNKLEY, W. L, FRANKE, A. A. Digestibility and effects of whole cottonseed fed to lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 64, n. 11, p. 2209-2215, Nov. 1981.

STEELE, W.; NOBLE, R. C.; MOORE, J. H. The effects of dietary soybean oil on milk fat composition in the cow. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 38, n. 1, p. 49-56, Feb. 1971.

TEIXEIRA, J. C.; TEIXEIRA, L. F. A. C. **Princípios de nutrição de bovinos leiteiros, textos acadêmicos.** Lavras: UFLA/FAEP, 2001. 245 p. (Curso de Pós-Graduação "Lato sensu" (Especialização) à Distância: Bovinocultura Leiteira, Manejo, Mercado e Tecnologia).

## ANEXOS

ANEXO A	Página
TABELA 1A Análise de variância da percentagem do total dos ácidos graxos de cadeia curta da gordura do leite.....	71
TABELA 2A Análise de variância da percentagem do total dos ácidos graxos de cadeia média da gordura do leite.....	71
TABELA 3A Análise de variância da percentagem do total dos ácidos graxos de cadeia longa da gordura do leite.....	72
TABELA 4A Análise de variância dos valores percentuais dos ácidos graxos de cadeia saturada da gordura do leite.....	72
TABELA 5A Análise de variância dos valores percentuais dos ácidos graxos de cadeia insaturada da gordura do leite.....	73
TABELA 6A Análise de variância da relação entre os ácidos graxos insaturados e os de cadeia saturada da gordura do leite.....	73
TABELA 7A Análise de variância dos resultados do conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados da gordura do leite.....	74
TABELA 8A Análise de variância dos resultados do conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados da gordura do leite.....	74
TABELA 9A Análise de variância dos resultados do conteúdo de Ácido Linoléico Conjugado (CLA) da gordura do leite.....	75

**TABELA 1A** Análise de variância da percentagem do total dos ácidos graxos de cadeia curta da gordura do leite

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Fc	Signif.
Quadrado Latino	7	13,65629	1,950900	0,868	ns
Vaca (Q. Latino)	24	50,24192	2,093414	0,932	ns
Período (Q. Latino)	24	56,03692	2,334872	1,039	ns
Tratamento	3	22,02676	7,342255	3,286	*
Tratamento x Q. Latino	21	66,39865	3,161841	1,407	ns
Erro	48	107,83960	2,246658		
<b>Total</b>	<b>127</b>	<b>316,20017</b>			
CV (%)	13,83				
Média geral	10,840468				

ns- Não significativo

\* - Significativo em nível de 5% de probabilidade

**TABELA 2A** Análise de variância da percentagem do total dos ácidos graxos de cadeia média da gordura do leite

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Fc	Signif.
Quadrado Latino	7	21,81651	3,11664	0,484	ns
Vaca (Q. Latino)	24	182,91574	7,62148	1,183	ns
Período (Q. Latino)	24	273,35609	11,38983	1,767	*
Tratamento	3	463,69535	154,56512	23,984	**
Tratamento x Q. Latino	21	114,57873	5,45613	0,847	ns
Erro	48	309,34108	6,44460		
<b>Total</b>	<b>127</b>	<b>1.365,7035</b>			
CV (%)	6,57				
Média geral	38,61570				

ns- Não significativo

\*\* - Significativo em nível de 1% de probabilidade

\* - Significativo em nível de 5% de probabilidade

**TABELA 3A** Análise de variância da percentagem do total dos ácidos graxos de cadeia longa da gordura do leite

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Fc	Signif.
Quadrado Latino	7	62,5305	8,93293	1,338	ns
Vaca (Q. Latino)	24	105,9492	4,41455	0,661	ns
Período (Q. Latino)	24	298,3812	12,43255	1,862	*
Tratamento	3	494,6365	164,87885	24,695	**
Tratamento x Q. Latino	21	101,9193	4,85330	0,727	ns
Erro	48	320,4755	6,67657		
<b>Total</b>	<b>127</b>	<b>1.383,8925</b>			
CV (%)	5,10				
Média geral	50,6342				

ns- Não significativo

\*\* - Significativo em nível de 1% de probabilidade

\* - Significativo em nível de 5% de probabilidade

**TABELA 4A** Análise de variância dos valores percentuais dos ácidos graxos de cadeia saturada da gordura do leite

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Fc	Signif.
Quadrado Latino	7	24,0840	3,44057	0,690	ns
Vaca (Q. Latino)	24	55,4751	2,31146	0,463	ns
Período (Q. Latino)	24	184,0165	7,66735	1,537	ns
Tratamento	3	792,0030	264,00102	52,936	**
Tratamento x Q. Latino	21	88,2898	4,20427	0,843	ns
Erro	48	239,3853	4,98719		
<b>Total</b>	<b>127</b>	<b>1.383,2539</b>			
CV (%)	3,50				
Média geral	63,7558				

ns- Não significativo

\*\* - Significativo em nível de 1% de probabilidade

**TABELA 5A** Análise de variância dos valores percentuais dos ácidos graxos de cadeia insaturada da gordura do leite

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Fc	Signif.
Quadrado Latino	7	34.27901	4,897002	1,091	ns
Vaca (Q. Latino)	24	62,17541	2,590642	0,577	ns
Período (Q. Latino)	24	192,59206	8,02467	1,788	*
Tratamento	3	803,15299	267,71766	59,657	**
Tratamento x Q. Latino	21	94,85292	4,516806	1,007	ns
Erro	48	215,40633	4,487632		
<b>Total</b>	<b>127</b>	<b>1.402,4587</b>			
CV (%)	5,86				
Média geral	36,14835				

ns- Não significativo

\*\* - Significativo em nível de 1% de probabilidade

\* - Significativo em nível de 5% de probabilidade

**TABELA 6A** Análise de variância da relação entre os ácidos graxos insaturados e os de cadeia saturada da gordura do leite

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Fc	Signif.
Quadrado Latino	7	0,038187	0,005455	1,359	ns
Vaca (Q. Latino)	24	0,086162	0,003590	0,894	ns
Período (Q. Latino)	24	0,202113	0,008421	2,097	*
Tratamento	3	0,427125	0,142375	35,460	**
Tratamento x Q. Latino	21	0,071638	0,003411	0,850	ns
Erro	48	0,192725	0,004015		
<b>Total</b>	<b>127</b>	<b>1,017950</b>			
CV (%)	11,15				
Média geral	0,568125				

ns- Não significativo

\*\* - Significativo em nível de 1% de probabilidade

\* - Significativo em nível de 5% de probabilidade

**TABELA 7A** Análise de variância dos resultados do conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados da gordura do leite

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Fc	Signif.
Quadrado Latino	7	36,5551	5,22216	2,118	ns
Vaca (Q. Latino)	24	69,0701	2,87793	1,167	ns
Período (Q. Latino)	24	151,50731	6,31280	2,561	**
Tratamento	3	681,50157	227,16719	92,140	**
Tratamento x Q. Latino	21	109,60757	5,21940	2,117	*
Erro	48	118,34176	2,46545	-	-
<b>Total</b>	<b>127</b>	<b>1.166,5839</b>			
CV (%)	4,98				
Média geral	31,514				

ns- Não significativo

\*\* - Significativo em nível de 1% de probabilidade

\* - Significativo em nível de 5% de probabilidade

**TABELA 8A** Análise de variância dos resultados do conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados da gordura do leite

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Fc	Signif.
Quadrado Latino	7	5,3727	0,76753	0,707	ns
Vaca (Q. Latino)	24	33,56023	1,39834	1,288	ns
Período (Q. Latino)	24	35,23513	1,46813	1,352	ns
Tratamento	3	38,89909	12,966363	11,924	**
Tratamento x Q. Latino	21	12,43192	0,59199	0,545	ns
Erro	48	52,115231	1,08573	-	-
<b>Total</b>	<b>127</b>	<b>177,61438</b>			
CV (%)	22,48				
Média geral	4,635				

ns- Não significativo

\*\* - Significativo em nível de 1% de probabilidade

\* - Significativo em nível de 5% de probabilidade

**TABELA 9A** Análise de variância dos resultados do conteúdo de Ácido Linoléico Conjugado (CLA) da gordura do leite

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Fc	Signif.
Quadrado Latino	7	0,312318	0,044617	0,755	ns
Vaca (Q. Latino)	24	1,985619	0,082734	1,400	ns
Período (Q. Latino)	24	2,697219	0,112384	1,901	*
Tratamento	3	12,868434	4,289478	72,571	**
Tratamento x Q. Latino	21	1,322735	0,062987	1,066	ns
Erro	48	2,837137	0,059107		
Total	127	22,02346			
CV (%)	24,06				
Média geral	1,01054				

ns- Não significativo

\*\* - Significativo em nível de 1% de probabilidade

\* - Significativo em nível de 5% de probabilidade

