

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

LÉA FURLAN D'ABREU

**Efeito da inclusão de óleo de girassol, selênio e vitamina E na dieta de vacas
lactantes sobre a qualidade e aceitabilidade do leite**

Pirassununga/SP

2015

LÉA FURLAN D'ABREU

Efeito da inclusão de óleo de girassol, selênio e vitamina E na dieta de vacas lactantes sobre a qualidade e aceitabilidade do leite

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Saran Netto

Pirassununga/SP
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo

D'Abreu, Léa Furlan

D116e Efeito da inclusão de óleo de girassol, selênio e
vitamina E na dieta de vacas lactantes sobre a qualidade
e aceitabilidade do leite / Léa Furlan D'Abreu. --
Pirassununga, 2015.

70 f.

Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.

Departamento de Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade
Animal.

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Saran Netto.

1. Análise sensorial 2. Antioxidantes 3. Estabilidade
oxidativa 4. Óleo de girassol 5. Perfil de ácidos graxos
da gordura do leite 6. Bovinos leiteiros. I. Título.

À minha mãe, dedico este trabalho com todo meu amor, respeito e gratidão. Espero que esta etapa que agora termino possa de alguma forma, retribuir e compensar todo o apoio e dedicação constantes.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos que, de algum modo, contribuíram para que este trabalho e aprendizado a ele vinculado fossem possíveis, mesmo que não tenham sido citados aqui, em especial:

A Deus, por me proteger e me dar forças; é em Suas mãos que entrego as rédeas da minha vida.

À minha mãe, que nunca mediu esforços para me oferecer a melhor vida possível; por todo o carinho e apoio em todos os momentos da minha vida. Obrigada por abrir mão de você mesma para que eu pudesse realizar meus sonhos.

Aos meus filhos de quatro patas (Puff, Jade, Pongo, Dinha e Odorico), pelo amor incondicional, lealdade, parceria e por seus rabinhos sempre abanando.

Ao Liiiindo, por todo o carinho e companheirismo. Obrigada por dividir a vida comigo. A sua dedicação e o seu caráter me ensinaram muito! Conhecer você, com certeza, foi uma das melhores coisas que já me aconteceram e eu quero que este tempo juntos dure infinitamente. Eu e a Gorda te amamos para sempre!

Aos meus queridos primos, Patrícia, Fabrício, André, Marina, Rafael, Renata, Luis Guilherme e Natália, agradeço por fazer parte da minha vida. Apesar de um único encontro anual, vocês estão sempre no meu coração.

Às minhas lindinhas (Ana, Anaïs, Bazinga, Fani, Lú, Kim, Popó, Resto, Tigreza, Tam³), por serem as melhores companheiras de república que alguém pode ter! Sim, nós brigamos, discutimos, mas o carinho é maior e prevalece. Este último ano em Pirassununga foi melhor por causa de vocês...

Aos queridos amigos: Quê, Maria Fernanda, Taís, Cadu, Xibungo, Frodo, Perna, Bia, Inútil, Camila, Sacudo, Tiago, Filipe por estarem sempre presentes e dispostos a ajudar; pela amizade e por fazerem destes anos uma das melhores experiências da minha vida!

Aos funcionários Apolinário e Andreia e ao colega Julio, por toda a contribuição durante as análises.

Aos Profs. César, Elizabete, Judite e Saulo, por terem disponibilizado os laboratórios e pela ajuda na interpretação dos resultados.

À Professora Ana Maria, minha “co-orientadora”, pelos conselhos, pela paciência e por sempre incentivar meu crescimento profissional. Obrigada pelas risadas, pelo carinho e pela amizade. Você é uma das pessoas mais dedicadas que eu já conheci.

Last but not least, um agradecimento especial ao Prof. Dr. Arlindo Saran Netto, pela valiosa orientação. Obrigada por toda a confiança, conhecimentos, dedicação e paciência. Acima de tudo, obrigada por sempre acreditar em mim e fazer questão de que eu soubesse disso! Não tenho palavras para expressar o quanto isso foi importante para a realização deste trabalho. Você é um exemplo a ser seguido... Serei eternamente grata por esta oportunidade!

“O sucesso nasce do querer, da determinação e da persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

D'ABREU, L.F. **Efeito da inclusão de óleo de girassol, selênio e vitamina E na dieta de vacas lactantes sobre a qualidade e aceitabilidade do leite.** 2015. 70f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da suplementação com óleo de girassol, selênio e vitamina E em vacas lactantes, com base no perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa da gordura do leite, além da aceitabilidade do produto pelos consumidores. Para tal, 32 vacas da raça Jersey em início de lactação foram distribuídas aleatoriamente entre os seguintes tratamentos dietéticos: C) controle; O) inclusão de 4% de óleo de girassol (% na MS); SE) inclusão de 3.000 UI de vitamina E/d + 3,5 mg de selênio/kg de MS; OSE) inclusão de 4% de óleo de girassol + 3.000 UI de vitamina E/d + 3,5 mg de selênio/kg de MS. Foram realizadas análises do perfil de ácidos graxos, TBARS e índice de peróxidos. Para caracterização sensorial do produto final, foram empregados os testes de aceitabilidade e diferença do controle. Os tratamentos dietéticos não influenciaram o desempenho produtivo e a composição do leite ($P>0,05$). Os animais suplementados com óleo de girassol produziram leite com elevado teor de ácido vacênico ($P<0,0001$) e ácido esteárico ($P<0,05$). O leite dos animais que receberam óleo de girassol apresentou menor concentração de C10:0, C12:0 e C14:0 ($P<0,05$). A inclusão dos antioxidantes na dieta não conseguiu retardar a oxidação do leite ($P>0,05$). Os resultados da análise sensorial mostraram que os avaliadores conseguiram identificar diferenças na cor das amostras de leite dos grupos tratados e do controle, em relação a um padrão conhecido ($P<0,01$), obtendo este a maior nota. Concluiu-se que a inclusão de óleo de girassol na dieta de vacas leiteiras resulta em mudanças no perfil de ácidos graxos do leite, com aumento de CLA, sem alterar a susceptibilidade da gordura à oxidação. A suplementação dietética com vitamina E e selênio não representou nenhum benefício à estabilidade oxidativa do leite. Além disso, as mínimas diferenças observadas pelos consumidores, referente às características organolépticas do leite frente a uma amostra padrão indicam que o produto final teria boa aceitação no mercado.

Palavras-chave: análise sensorial, antioxidantes, estabilidade oxidativa, óleo de girassol, perfil de ácidos graxos da gordura do leite, bovinos leiteiros

ABSTRACT

D'ABREU, L.F. **Effect of sunflower oil, selenium and vitamin E inclusion in the diet of lactating cows on the quality and acceptability of milk.** 2015. 70f. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

The objective of this study was to evaluate the effect of supplementation with sunflower oil, vitamin E and selenium in lactating cows based on fatty acid profile and oxidative stability of milk fat in addition to the acceptability of the final product by consumers. For this, 32 Jersey cows in early lactation were randomly distributed among the following dietary treatments: C) control; O) inclusion of 4% sunflower oil (% DM); SE) inclusion of 3,000 IU vitamin E/d + 3.5 mg selenium/kg DM; OSE) inclusion of 4% sunflower oil + 3,000 IU vitamin E/d + 3.5 mg selenium/kg DM. Analysis of the milk fatty acid profile, TBARS and peroxide value were performed. For sensory characteristics of the final product, acceptability testing and difference from the control test were conducted. Dietary treatment did not affect cow's performance and milk composition ($P>0.05$). The animals supplemented with sunflower oil produced milk with higher vaccenic acid ($P<0.0001$) and stearic acid ($P<0.05$) content. The milk of animals receiving sunflower oil showed the lowest concentrations of C10:0, C12:0 and C14:0 ($P<0.05$). The inclusion of antioxidants in the diet failed to retard the oxidation of the milk ($P>0.05$). The results of sensory analysis showed that the evaluators were able to identify differences in the color of the milk samples from control and treated groups, compared to a known standard ($P<0.01$), to which it was given the highest score. It was concluded that the sunflower oil inclusion in the diet of dairy cows results in changes in milk fatty acids profile, increasing CLA content, without altering the fat susceptibility to oxidation. Dietary supplementation with vitamin E and selenium did not represent any benefit to oxidative stability of milk. Furthermore, the minimum differences observed by consumers, regarding the organoleptic characteristics of milk compared to a known standard indicates that the final product would have good market acceptance.

Keywords: antioxidants, dairy cattle, fatty acids profile of milk fat, oxidative stability, sensory analysis, sunflower oil

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Vias de síntese endógena do ácido rumênico em vacas leiteiras.....	22
Figura 2	Vias de biohidrogenação ruminal do ácido linoleico em condições normais e durante a depressão da gordura do leite induzida pela dieta.....	25
Figura 3	Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica.....	27
Figura 4	Estrutura química da vitamina E.....	31
Figura 5	Ação da enzima glutathione-peroxidase.....	33
Figura 6	TBARS (A) e índice de peróxidos (B) analisados nos tempos 0, 24 e 96 horas.....	52
Figura 7	Médias atribuídas às amostras de leite dos diferentes tratamentos dietéticos (Escala hedônica de valores: 1 = não é diferente; 9 = extremamente diferente).....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Ingredientes das dietas experimentais.....	36
Tabela 2	Composição químico-bromatológica das dietas experimentais, sendo os valores expressos em porcentagem da matéria-seca.....	38
Tabela 3	Desempenho produtivo e composição do leite de vacas leiteiras suplementadas com óleo de girassol, selênio e vitamina E.....	43
Tabela 4	Composição de ácidos graxos da gordura do leite de vacas suplementadas com óleo de girassol, vitamina E e selênio.....	45
Tabela 5	Índice de peróxidos e valores de TBARS no leite de vacas alimentadas com as dietas experimentais.....	49
Tabela 6	Pontuação da análise sensorial em painel aberto sobre a aceitação do leite pelos consumidores.....	53

LISTA DE SIGLAS

AG - ácidos graxos

AGCCM - ácidos graxos de cadeia curta e média

AGI - ácidos graxos insaturados

AGCIR - ácidos graxos de cadeia ímpar e ramificada

AGCL - ácidos graxos de cadeia longa

AGMI - ácidos graxos monoinsaturados

AGPI - ácidos graxos poliinsaturados

AGS - ácidos graxos saturados

CLA - ácido linoleico conjugado

d - dia

DGL - depressão da gordura do leite

g - gramas

GSH-Px - glutathiona-peroxidase

IA - índice de aterogenicidade

IP - índice de peróxidos

IT - índice de trombogenicidade

kg - kilogramas

L - litros

máx - máximo

mg - miligramas

min - minutos

mín - mínimo

mL - mililitros

MS - matéria seca

PL - produção de leite

PLC - produção de leite corrigida para 3,5% de gordura

Se - selênio

SD - sólidos desengordurados

ST - sólidos totais

TBARS - teste de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

UI - unidades internacionais

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 Panorama brasileiro da produção e consumo de leite.....	14
2.2 Importância do leite à saúde humana.....	15
2.3 Características da gordura do leite.....	16
2.3.1 Óleos vegetais e modulação do perfil de ácidos graxos da gordura do leite.....	18
2.4. Óleo de girassol.....	20
2.5 Ácido linoleico conjugado.....	21
2.5.1 Relação entre depressão da gordura do leite e o perfil de ácidos graxos.....	24
2.6 Oxidação lipídica.....	26
2.6.1 Influência da dieta sobre a estabilidade oxidativa do leite.....	28
2.7 Antioxidantes.....	29
2.7.1 Vitamina E.....	31
2.7.2 Selênio.....	32
2.8 Análise sensorial de alimentos.....	35
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1 Local, instalações e animais.....	35
3.2 Delineamento e dietas experimentais.....	36
3.3 Análise de alimentos.....	37
3.4 Produção e composição do leite.....	38
3.5 Perfil de ácidos graxos da gordura do leite.....	39
3.6 Taxa de oxidação do leite.....	40
3.7 Avaliação sensorial.....	41
3.8 Análises estatísticas.....	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
4.1 Produção e composição do leite.....	42

4.2 Perfil de ácidos graxos da gordura do leite.....	44
4.3 Estabilidade oxidativa do leite.....	49
4.4 Avaliação sensorial.....	52
5. CONCLUSÃO.....	54
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um país cuja economia está fortemente atrelada ao desempenho do setor agropecuário. A atividade leiteira tem papel de destaque, permitindo geração de renda, empregos e tributos. No entanto, este setor ainda carece de investimentos tecnológicos que possam melhorar a produtividade dos animais, a lucratividade do produtor e a qualidade higiênico-sanitária do leite.

O alto valor nutricional do leite é reconhecido desde os primórdios da civilização, sendo considerado um alimento de extrema importância ao crescimento e desenvolvimento adequado dos mamíferos e à prevenção contra doenças crônicas, como osteoporose, hipertensão e alguns tipos de câncer. Contudo, em razão do elevado teor de gordura saturada, os produtos lácteos são frequentemente vistos como vilões da dieta humana.

De encontro à busca do consumidor por produtos mais saudáveis, a inclusão de óleos vegetais ricos em ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) na dieta de vacas leiteiras é vista como uma alternativa promissora. A partir desta prática, é possível aumentar a concentração de ácidos graxos insaturados (AGI) e ácido linoleico conjugado no leite, ao mesmo passo que a proporção de ácidos graxos saturados (AGS) é diminuída. O ácido linoleico conjugado é derivado do metabolismo do ácido linoleico e considerado um importante promotor da saúde humana, devido ao seu potencial efeito anticarcinogênico, antiaterogênico, estimulador da resposta imune, antidiabético e ainda, capaz de reduzir o acúmulo de gordura corporal.

Dentre os óleos vegetais capazes de melhorar o perfil de ácidos graxos (AG) da gordura do leite já estudados, o óleo de girassol é uma excelente opção em virtude do seu alto teor de ácido linoleico. Além disso, a cultura de girassol é amplamente difundida no território nacional brasileiro, permitindo que produtores de leite de diversas regiões do País tenham acesso a esta oleaginosa.

Por outro lado, a suplementação dos animais com AGPI predispõe a gordura do leite à oxidação. Isso determina a formação de compostos de odor e sabor desagradáveis, ocasionando perda da qualidade organoléptica e nutricional do produto, e reduzindo sua aceitabilidade pelo consumidor. Ademais, o tempo de prateleira é afetado negativamente, acarretando em prejuízos econômicos à indústria.

Para minimizar a ocorrência deste processo, a inclusão dietética de antioxidantes parece ser bastante eficiente. Antioxidantes naturais, como o selênio e a vitamina E, além estarem de acordo com as exigências do mercado no quesito alimentação saudável, são

capazes de retardar a oxidação lipídica, minimizando o efeito da suplementação dos animais com óleos de plantas. Também desempenham papel fundamental como promotores da saúde humana, visto que os radicais livres formados durante a oxidação da gordura são responsáveis pelo envelhecimento celular e, conseqüente, desenvolvimento de doenças.

Com base nos aspectos mencionados, o presente trabalho foi delineado com a finalidade de avaliar o efeito da inclusão de óleo de girassol, selênio e vitamina E na dieta de vacas leiteiras sobre o perfil lipídico do leite, estabilidade oxidativa da gordura, e sobre as características sensoriais e aceitabilidade do produto final pelos consumidores.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Panorama brasileiro da produção e consumo de leite

Em 2013, o País produziu 34,2 bilhões de litros de leite (IBGE, 2013) e ocupa, atualmente, a 4ª posição no ranking dos maiores produtores mundiais (USDA, 2014). Segundo projeções do governo (BRASIL, 2014), a produção de leite cru deverá atingir 44,7 bilhões de litros ao final do período 2023/2024 a uma taxa anual de crescimento entre 2,6% e 3,4%. Apesar da elevada produção de leite, a produtividade nacional é extremamente baixa (1.492 L/vaca/ano) quando comparada a de outros países, refletindo as deficiências no manejo dietético, reprodutivo e sanitário dos animais, além da qualidade genética inferior (IBGE, 2013).

O cenário da pecuária leiteira no Brasil é caracterizado pela centralização da produção nas mãos de poucos grandes produtores. Cerca de 115 mil produtores (8,5% do total nacional) são responsáveis por 53,1% do volume total de leite produzido no País (IBGE, 2011), sendo MG (27,17%), RS (13,16%), PR (12,70%), GO (11,02%) e SC (8,52%) os principais estados produtores de leite (IBGE, 2013).

No último censo agropecuário (IBGE, 2006) foi constatado que do total de estabelecimentos rurais brasileiros, 26,1% (aproximadamente 1,35 milhões de propriedades) produzem leite, envolvendo cerca de 5 milhões de pessoas. De acordo com levantamento realizado pela Associação Brasileira dos Produtores de Leite (Leite Brasil, 2010), o setor de laticínios emprega em torno de 4 milhões de trabalhadores, distribuídos entre as etapas de produção (3,8 milhões), industrialização e transporte (150 mil), ocupando o primeiro lugar no ranking de empregabilidade do setor privado no Brasil. Martins e Guilhoto (2001) estimam

que para cada aumento de R\$ 1 milhão na demanda de produtos lácteos, 197 novos empregos são gerados com renda média de R\$ 1.060,00 para cada novo trabalhador. Em razão da elevada necessidade de trabalhadores, a cadeia leiteira é de extrema importância na geração de empregos e de renda. Também contribui significativamente à geração de recursos públicos, através da captação de tributos. A combinação destes fatores impulsiona o desenvolvimento econômico regional e nacional (VIANA; FERRAS, 2007).

Mudanças nos hábitos alimentares e na renda familiar tem resultado em crescimento gradativo do consumo de leite per capita nos países subdesenvolvidos. Estima-se que o consumo de leite pela população brasileira no período entre 2013 e 2014 atinja 179 L/habitante (BRASIL, 2014). Apesar de representar aumento de 6,5% com relação ao ano de 2012, ainda está bem abaixo dos 215 L/habitante/ano recomendados pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO). Segundo dados da FAO (2014), 29% do total de energia da dieta dos brasileiros são supridos através do consumo de gorduras, sendo que o leite representa 6,7% da oferta dietética de energia.

2.2 Importância do leite à saúde humana

O leite é uma secreção nutritiva de cor esbranquiçada e opaca produzida pelas glândulas mamárias dos mamíferos. Apresenta-se como um sistema trifásico de alta complexidade dividido da seguinte maneira: a) emulsão dos glóbulos de gordura e vitaminas lipossolúveis, b) suspensão coloidal das micelas de caseína, c) solução aquosa de proteínas, lactose, minerais, e outros compostos (ANTUNES, 2003).

No geral, o leite bovino é composto por 87% de água e 13% de sólidos totais, dos quais 4,6% correspondem à lactose, 4,2% à gordura, 3,4% às proteínas, 0,8% aos minerais; e 0,1%, às vitaminas (LINDMARK-MANSSON, 2008). Porém, sua composição pode variar de acordo com a raça, estação do ano, estágio de lactação, estado de saúde do animal e manejo nutricional (da SILVA, 1997). Tido com um dos alimentos mais completos em razão da sua riqueza de nutrientes, é capaz de satisfazer a todas as necessidades nutricionais e metabólicas de animais recém-nascidos (SGARBIERI, 1996).

Desde os primórdios da civilização, o leite tem sido utilizado na alimentação humana como fonte de proteína, gordura, vitaminas, minerais, energia e outros constituintes essenciais, sendo reconhecido como um alimento fundamental ao balanço dietético adequado. Em extensa revisão de literatura, Huth, DiRienzo e Miller (2006) demonstraram a importância

do consumo adequado de leite e derivados para o fornecimento de cálcio ao organismo, controle do risco de hipertensão, perda de peso e de gordura corporal, e prevenção de alguns tipos de câncer. De acordo com orientações do governo americano, uma das principais medidas a serem adotadas pela população mundial visando o atendimento da necessidade diária de nutrientes, prevenção de doenças e manutenção de boa saúde é o aumento da ingestão de produtos lácteos (FAO, 2013).

Apesar dos inúmeros benefícios já descritos, o papel do leite e seus derivados na alimentação humana tem sido bastante questionado nos últimos anos. A interação entre os nutrientes do leite, por muitas vezes, podem provocar efeitos contraditórios sobre a saúde. Um exemplo disso é a gordura que, apesar de importante fonte energética e carreadora de vitaminas lipossolúveis, quando consumida em excesso predispõe ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (WEAVER et al., 2013). A principal razão apontada é o elevado teor de AGS na gordura do leite. De acordo com o Guia Dietético elaborado recentemente em conjunto pelos Departamentos de Agricultura e de Saúde e Serviços Humanos dos EUA, preconiza-se que o consumo de gordura saturada não ultrapasse 10% das calorias diárias. É preferível que a mesma seja substituída por ácidos graxos mono e poliinsaturados. Ainda conforme este documento, 24,3% do total de AGS ingeridos pela população americana são oriundos de produtos lácteos (DIETARY GUIDELINES FOR AMERICANS, 2010).

Cada vez mais, os consumidores acreditam que a dieta contribui diretamente à manutenção da saúde, e buscam por alimentos que, além de saciar a fome, sejam capazes de prevenir doenças e melhorar o bem-estar físico e mental (Mollet; Rowland, 2002; Nöthlings et al., 2007; Takachi et al., 2008), conhecidos como alimentos funcionais. Neste contexto, pesquisadores têm se esforçado para desenvolver novos produtos lácteos que possam atuar como promotores da saúde humana, através da sua constituição nutricional, o que Boland, Macgibbon e Hill (2001) chamaram de *designer milks*. O leite e seus derivados podem tornar-se mais atraentes e valiosos se projetados para atender as necessidades nutricionais específicas dos seres humanos.

2.3 Características da gordura do leite

A gordura corresponde à maior parte do conteúdo energético do leite e é responsável por muitas de suas características físicas e de processamento. Também é fundamental à qualidade organoléptica dos produtos lácteos (JENSEN; FERRIS; LAMMI-KEEFE, 1991;

SHINGFIELD et al., 2010). O leite bovino contém aproximadamente 3 a 5% de gordura, sendo este o componente mais variável. É significativamente influenciada por fatores fisiológicos e ambientais, como dieta, raça, fase da lactação, genótipo e estação do ano (PALMQUIST; BEAULIEU; BARBANO, 1993; DOREAU et al., 1999). Dentre estes, o manejo nutricional desempenha papel de extrema importância (BAUMAN; GRIINARI, 2001).

Em média, 95% do teor lipídico do leite são compostos por triacilgliceróis; e os 5% restantes, por fosfolipídeos, colesterol, diacilgliceróis, monoacilgliceróis e AG livres, além de ésteres de colesterol, hidrocarbonetos e vitaminas lipossolúveis (JENSEN, 2002; MICINSKI et al., 2012). Devido à constituição única de seus triacilgliceróis, sintetizados a partir de mais de 400 ácidos graxos diferentes, a gordura do leite é tida como a mais complexa da natureza (JENSEN, 2002).

Os ácidos graxos do leite bovino são derivados da alimentação e da atividade microbiana ruminal (PARODI, 2004). No rúmen, os lipídeos dietéticos são hidrolisados a AG livres e glicerol, através da ação de lipases microbianas. O glicerol é rapidamente fermentado a ácidos graxos voláteis (acetato, butirato e propionato), que são absorvidos através da parede ruminal. O acetato e o β -hidroxibutirato chegam à glândula mamária através da circulação sanguínea, onde irão servir como substrato à síntese *de novo* dos ácidos graxos de cadeia curta e média (AGCCM) – 4:0 a 14:0 e 50% de 16:0 (MANSBRIDGE; BLAKE, 1997; JENSEN, 2002; MICINSKI et al., 2012).

Enquanto isso, os AG livres são biohidrogenados no rúmen. Durante este processo, bactérias ruminais saturam as duplas ligações dos AGI, considerados tóxicos, com moléculas de hidrogênio. Alguns AG conseguem escapar antes da finalização de todas as etapas, dando origem aos produtos intermediários da biohidrogenação ruminal incompleta. Em seguida, os AG são absorvidos através da parede intestinal e transportados por meio de lipoproteínas, principalmente LDL e VLDL, para a glândula mamária, onde dão origem a ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) – 50% de 16:0 e >18:0 (MANSBRIDGE; BLAKE, 1997; BAUMAN; GRIINARI, 2001; JENSEN, 2002; SHINGFIELD et al., 2010; MICINSKI et al., 2012). Finalmente, os AG sintetizados na própria glândula mamária ou extraídos da circulação arterial são incorporados aos triacilgliceróis do leite (ZHAO et al., 2013).

Geralmente, a hidrogenação é acompanhada de isomerização posicional da ligação dupla do AG, passando de *cis* para *trans*. Isso faz com que a carne e o leite de ruminantes

sejam importantes fontes de AG-*trans* (MANSBRIDGE; BLAKE, 1997; JENKINS; HAVARTINE, 2014).

O leite bovino é composto por 75% de AGS, 21% de AGMI e 4% de AGPI, sendo os principais representantes de cada categoria os ácidos palmítico (30% do total de AG), esteárico (12%) e mirístico (11%); oleico (23,8%); linoleico (1,6%) e linolênico (0,7%), respectivamente. Em torno de 2,7% dos ácidos graxos da gordura do leite são *trans*, sendo o principal o 11*t*-18:1 (MANSBRIDGE; BLAKE, 1997; LINDMARK-MANSSON, 2008). O perfil de AG do leite bovino é variável e depende de muitos fatores, que podem ser de origem animal (raça, estágio de lactação, doenças, padrão individual de fermentação ruminal) ou alimentar, relacionados à ingestão de fibras e gordura principalmente (LINDMARK-MANSSON, 2008). Quando considerada a suplementação de bovinos leiteiros com lipídeos, o perfil de AG e o teor de gordura no leite podem variar, dependendo da origem da gordura (animal *vs.* vegetal), o grau de saturação, eficiência da proteção contra o ataque dos microorganismos ruminais, e no caso particular de fontes vegetais, a natureza do produto, ou seja, óleo ou sementes oleaginosas (REGO et al., 2005).

2.3.1 Óleos vegetais e modulação do perfil de ácidos graxos da gordura do leite

O perfil de ácidos graxos do leite é determinado pela inter-relação entre a composição da dieta, o metabolismo ruminal e a lipogênese mamária (CHILLIARD et al., 2007; WOODS; FEARON, 2009). Assim, o manejo nutricional é o principal responsável pela composição da gordura do leite (MANSBRIDGE; BLAKE, 1997). Inúmeros estudos já foram conduzidos com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação com óleos vegetais sobre o perfil de ácidos graxos do leite, através dos quais concluiu-se que as respostas variam de acordo com a fonte (Loor et al., 2005; Bu et al., 2007; Rego et al., 2009; He; Armentano, 2011) e o nível de inclusão (CRUZ-HERNANDEZ et al., 2007; FLOWERS; IBRAHIM; ABUGHAZALEH, 2008). Apesar das diferenças, os estudos concordam que existe uma relação direta entre o perfil de ácidos graxos do leite e dos óleos utilizados como fontes lipídicas (HE; ARMENTANO, 2011).

Exceto pelos óleos de coco (Reveneau et al., 2012) e de palma (Stoffel; Crump; Armentano, 2015), os óleos vegetais são considerados ricos em AGI, diferindo no conteúdo de ácido oleico, linoleico e linolênico (REGO et al., 2009). Geralmente, os AGI são biohidrogenados no rúmen a AGS dentro de um curto período de tempo (HARFOOT;

HAZLEWOOD, 1988). No entanto, a extensão da biohidrogenação ruminal é limitada (Jenkins, 1993) e quando há excesso de substrato, alguns ácidos graxos podem escapar antes que o processo tenha sido finalizado, dando origem aos produtos intermediários da biohidrogenação incompleta (DHIMAN et al., 2000). Portanto, a inclusão dietética de óleos de plantas é frequentemente relacionada a um aumento no teor de AG *t*-18:1 (Kalscheur et al., 1997; Focant et al., 1998; Flowers; Ibrahim; AbuGhazaleh, 2008), paralelo à queda da concentração de AGS (REGO et al., 2005; BU et al., 2007; REGO et al., 2009; FLOWERS; IBRAHIM; ABUGHAZALEH, 2008). Também é comum observar queda do teor de AGCCM (Mansbridge; Blake, 1997; Focant et al., 1998; Bu et al., 2007; Flowers; Ibrahim; AbuGhazaleh, 2008; Rego et al., 2009; He; Armentano, 2011; O'Donnell-Megaró et al., 2012), ao mesmo passo que a concentração de AGCL é maior (Mansbridge; Blake, 1997; Dhiman et al., 2000; Flowers; Ibrahim; AbuGhazaleh, 2008; O'Donnell-Megaró et al., 2012) para dietas adicionadas de óleos vegetais. O efeito da elevada oferta de AGCL para vacas lactantes, resultando em uma gordura mais insaturada, é há muito aceito (Grummer, 1991; Chilliard et al., 2007), porém a magnitude da resposta depende do tipo de óleo utilizado (BU et al., 2007).

Os AGCM são reconhecidos por seu potencial hipercolesterolêmico (Ney, 1991); então, a redução destes ácidos graxos como consequência da inibição da síntese *de novo* na glândula mamária induzida pelos AGI dietéticos (Grummer, 1991; Rego et al., 2005; O'Donnell-Megaró et al., 2012) pode melhorar a qualidade da gordura do leite. De acordo com os resultados de Dhiman et al. (2000) e Flowers, Ibrahim e AbuGhazaleh (2008), este efeito é proporcional ao conteúdo de óleo na dieta e pode chegar a 50% de redução.

Uma das principais hipóteses aceitas para explicar as inúmeras mudanças no perfil de ácidos graxos do leite provocadas pela inclusão de óleos vegetais na dieta é a ação dos lipídeos sobre a população microbiana ruminal. Diversos autores relataram que os óleos de plantas têm efeito negativo sobre o total de bactérias celulóticas viáveis no fluido ruminal (YANG et al., 2009; MAPATO; WANAPAT; CHERDTHONG, 2010; LUNSIN; WANAPAT; ROWLINSON, 2012). Estes micro-organismos, através da hidrólise de carboidratos estruturais, produzem acetato, propionato e butirato (Arcuri; Lopes; Carneiro, 2006), substratos necessários à síntese *de novo* de AGCCM na glândula mamária (JENSEN, 2002). Em contraste, a população ruminal de *Butyrivibrio fibrisolvens* é maior para vacas alimentadas com óleos vegetais (LUNSIN; WANAPAT; ROWLINSON, 2012). Esta espécie de bactéria é associada à biohidrogenação incompleta do ácido linoleico a ácido esteárico

(Polan; McNeill; Tove, 1964), aumentando o teor de AG *t*-18:1 *in vitro* (KEPLER et al., 1966).

2.4 Óleo de girassol

O óleo de girassol é uma excelente fonte de ácidos graxos poliinsaturados, principalmente ácido linoleico (Velasco; Andersen; Skibsted, 2004; Rego et al., 2005; Rego et al., 2009), cujos principais produtos da biohidrogenação ruminal são 11*t*-18:1 e 9*c*, 11*t*-18:2 (LOOR; HERBEIN, 2003). Também apresenta conteúdo relativamente elevado de ácido oleico (Rego et al., 2005; AbuGhazaleh; Felton; Ibrahim, 2007; AbuGhazaleh; Holmes, 2007), que dará origem a 9*t*-18:1 e 6*t*, 7*t*, 8*t*-18:1 (LOOR; HERBEIN, 2003).

Diversos estudos já foram conduzidos com o intuito de avaliar o efeito da inclusão dietética de óleo de girassol sobre o desempenho produtivo de vacas leiteiras. Assim como no caso de outras fontes lipídicas ricas em ácido linoleico, como o óleo de soja (O'Donnell-Megaró et al., 2012), o principal achado é a queda do teor de gordura (REGO et al., 2005; REGO et al., 2009). Apesar de não ser muito comum, o óleo de girassol pode também afetar de maneira positiva a produção de leite, proteína e lactose (MURPHY; COAKLEY; STANTON, 2008).

Quando considerado o perfil de AG do leite, o óleo de girassol promove diversas mudanças consideradas benéficas à qualidade da gordura do leite. Rego et al. (2009) compararam o mesmo nível de inclusão (0,5kg/d) dos óleos de girassol, canola e linhaça. Foi observada redução do teor de AGCCM para todos os óleos em relação ao controle, porém o óleo de girassol foi mais eficiente do que o óleo de linhaça. Indo de encontro às preocupações do consumidor com o teor de gordura saturada nos alimentos, Rego et al. (2005) notaram diminuição dos AGS no leite de vacas que eram suplementadas com óleo de girassol.

Segundo Loor et al. (2004), o óleo de girassol determina aumento da produção ruminal de 9*c*, 11*t*-18:2, 10*t*, 12*c*-18:2 e 10*t*-18:1 em decorrência de mudanças nas vias de biohidrogenação, o que pode ser refletido em maior concentração destes ácidos graxos no leite. No entanto, em vacas secas, a inclusão de óleo de girassol na dieta não altera o metabolismo ruminal do ácido linoleico (ZENED et al., 2013).

Quando avaliaram níveis crescentes (1,5%, 3% e 4,5%) de óleo de girassol na dieta de vacas leiteiras, Cruz-Hernandez et al. (2007) concluíram que para obter uma qualidade desejável da gordura do leite (4% de ácido vacênico e 2% de ácido rumênico), a inclusão

moderada, ou seja, 3% da MS consumida, é a melhor opção. Murphy, Coakley e Stanton (2008) sugerem combinar o óleo de girassol ao óleo de peixe. Os autores conseguiram aumentar em 34% o teor de 9*c*, 11*t*-18:2 no leite de vacas alimentadas com 50 g de óleo de peixe e 255 g de óleo de girassol; aumento superior ao provocado pelo óleo de girassol (6,25%) ou de peixe (22,72%) em separado.

Em produtos lácteos, de 0,4% a 4% do total de ácidos graxos são compostos por 11*t*-18:1, que pode ser dessaturado a 9*c*, 11*t*-18:2 no tecido humano (COLLOMB et al., 2006). Portanto, dietas que proporcionam aumento de ácido vacênico na gordura do leite também representam benefícios à saúde humana. O óleo de girassol já se mostrou eficiente em elevar o teor de 11*t*-18:1 na gordura do leite (CRUZ-HERNANDEZ et al., 2007).

2.5 Ácido linoleico conjugado

O termo ácido linoleico conjugado (CLA) descreve um conjunto de isômeros posicionais geométricos do ácido linoleico, com duplas ligações conjugadas em diferentes posições, que variam de 6,8 a 12,14 (JENSEN, 2002; KHANAL; OLSON, 2004; COLLOMB et al., 2006). Para cada isômero posicional, quatro pares geométricos são possíveis (*cis*, *trans*; *trans*, *cis*; *cis*, *cis* e *trans*, *trans*), totalizando 28 isômeros posicionais e geométricos (COLLOMB et al., 2006). Tem sido demonstrado que o CLA possui efeitos benéficos à saúde humana, incluindo propriedades anticarcinogênicas (IP et al., 1991; PARODI, 1997).

A gordura do leite e da carne de ruminantes é a principal fonte de isômeros CLA para humanos (Khanal; Olson, 2004), contendo, em média, 5,5 e 4,3 mg de CLA/g de gordura, respectivamente (KOBA; YANAGITA, 2014). Estima-se que a população brasileira consuma 36 mg/d de CLA na forma de produtos lácteos, dos quais 85% são representados exclusivamente pelo leite integral, estando entre o Brasil entre o grupo de países com menor ingestão de CLA (NUNES; TORRES, 2010). Na gordura do leite, predominam os CLA com ligação *trans* (80 a 90%), considerados bioativos. O principal representante deste grupo é o 9*c*, 11*t*-18:2 (Jensen, 2002), que compreende cerca de 75 a 90% do total de CLA (BAUMAN; CORL; PETERSON, 2003). O teor médio de 9*c*, 11*t*-18:2 no leite integral varia entre 0,30 a 0,55 g/100 g de ácidos graxos (DHIMAN et al., 1999).

Como demonstrado na figura 1, o 9*c*, 11*t*-18:2 é oriundo de duas fontes, produto da biohidrogenação parcial no rúmen do ácido linoleico e síntese endógena via ação da enzima Δ^9 -dessaturase presente na glândula mamária sobre o ácido vacênico que, por sua vez, é

derivado da biohidrogenação ruminal incompleta de AGPI (Grinari; Bauman, 1999), sendo esta considerada a via de síntese primária (CORL et al., 2001). De acordo com Loor et al. (2005), entre 82% e 97% do $9c, 11t-18:2$ secretado no leite é derivado da dessaturação de $11t-18:1$. A disponibilidade do ácido vacênico para síntese mamária do ácido rumênico depende de dietas que favorecem elevada proporção $11t-18:1/10t-18:1$ (ABUGHAZALEH; FELTON; IBRAHIM, 2007). Isso porque o $10t-18:1$ favorece a formação de $10t, 12c-18:2$, CLA frequentemente associado à redução da gordura do leite (BAUMGARD et al., 2000).

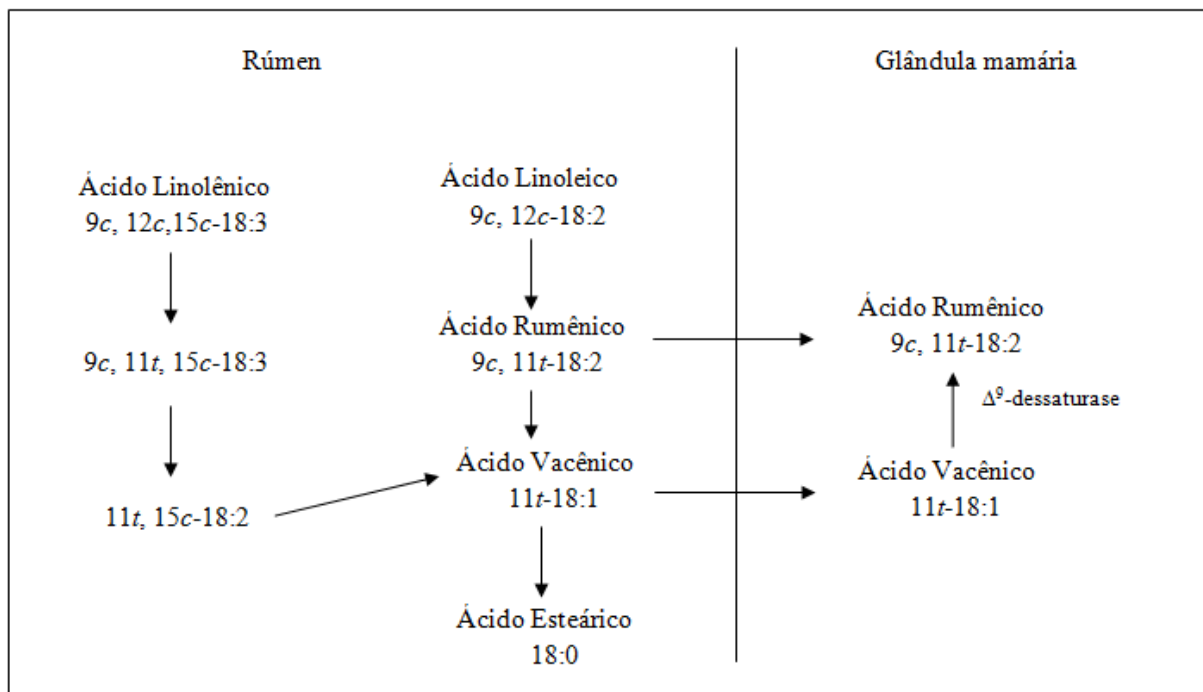


Figura 1. Vias de síntese endógena do ácido rumênico em vacas leiteiras. Adaptado de Bauman, Corl e Peterson (2003).

Uma série de fatores ligados ao manejo nutricional, às características individuais dos animais e ao processamento do produto influencia o conteúdo de CLA do leite. Dentre todos esses, a dieta dos animais parece ter maior importância (KHANAL; OLSON, 2004). Neste cenário, a suplementação de bovinos com óleos vegetais ricos em AGPI é associada a aumento expressivo do teor de CLA total (Dhiman et al., 2000) e de $9c, 11t-18:2$ no leite (Rego et al., 2005; Bu et al., 2007; Cruz-Hernandez et al., 2007; Flowers; Ibrahim; AbuGhazaleh, 2008; He; Armentano, 2011; O'Donnell-Megaró et al., 2012), principalmente se a fonte lipídica utilizada tiver alto teor de ácido linoleico ou ácido linolênico em sua composição (LOOR; HERBEIN, 2003; REGO et al., 2005; ABUGHAZALEH; HOLMES,

2007). Dhiman et al. (2000) relataram aumento de 314% de CLA total para vacas suplementadas com óleo de soja (4% da MS). Bu et al. (2007) conseguiram aumentar em 273% o teor de 9c, 11*t*-18:2 na gordura do leite a partir da inclusão dietética de 4% óleo de soja.

Shingfield et al. (2006) observaram aumento de 6,95 e 6,9 vezes, respectivamente, da concentração de CLA e de 9c, 11*t*-18:2 no leite utilizando uma mistura de óleo de peixe e óleo de girassol (2:1) para vacas alimentadas com silagem de milho, comprovando que a maior parte do CLA na gordura de ruminantes é representada pelo ácido rumênico. Em estudo posterior, AbuGhazaleh e Holmes (2007) avaliaram o efeito da inclusão de óleos ricos em AGPI para vacas a pasto. Os autores compararam uma dieta controle contendo 400 g de gordura animal saturada com outra contendo 100 g de óleo de peixe e 300 g de óleo de girassol e observaram que esta última dobrou o teor de 9c, 11*t*-18:2 no leite. De acordo com Murphy, Coakley e Stanton (2008), a combinação entre os óleos de peixe e girassol é mais eficiente em aumentar o 9c, 11*t*-18:2 no leite do que quando utilizados em separado.

Diferentes graus de enriquecimento da gordura do leite com CLA são esperados quando utilizados diferentes óleos. Suplementar vacas leiteiras com óleo de girassol (53,3 g/kg de MS), rico em ácido linoleico, por duas semanas, resultou em uma concentração de CLA no leite igual a 24,4 mg/g de gordura, que foi significativamente maior do que a obtida com inclusões semelhantes de óleo de amendoim (13,3 mg/g de gordura), rico em ácido oleico, ou óleo de linhaça (16,7 mg/g de gordura), rico em ácido linolênico (KELLY et al., 1998). Em outro trabalho, Rego et al. (2009) compararam a suplementação de vacas a pasto com a mesma proporção (0,5 kg/d) de óleo de girassol, canola e linhaça sobre a concentração de 9c, 11*t*-18:2 no leite. De acordo com os autores, somente os óleos de girassol e de linhaça conseguiram aumentar o teor deste ácido graxo, sem que houvesse diferença estatisticamente significativa entre ambos.

Já é bem aceita pelos pesquisadores a relação entre o consumo de CLA, em especial o ácido rumênico, e potenciais benefícios à saúde humana. Em revisão de literatura recente, Koba e Yanagita (2014) apontam efeitos antimutagênico, anticarcinogênico, antiobesidade, antidiabético e anti-hipertensivo destes compostos, além da capacidade de prevenir aterosclerose e melhorar a função imune. Park et al. (2013) sugeriram que o CLA, juntamente com o cálcio dietético, tem um grande potencial para ser usado na prevenção de perda óssea e ganho de peso associados à menopausa. De acordo com Mele et al. (2013), o CLA plasmático depende da quantidade diária ingerida, sendo necessário consumo superior a 3,2 g/d para

atingir concentração plasmática suficiente para exercer efeitos nutricionais em animais experimentais.

2.5.1 Relação entre depressão da gordura do leite e o perfil de ácidos graxos

A depressão da gordura do leite (DGL) é um fenômeno complexo que envolve alterações dos processos digestivos e do metabolismo tecidual, culminando em redução da produção ou do teor de gordura no leite e modificações características no perfil de ácidos graxos (BAUMAN; GRIINARI, 2001). Por causa da forte influência da gordura sobre os preços pagos aos produtores de leite, é considerado um problema econômico sério em muitas regiões do mundo (BU et al., 2007; WEIMER; STEVENSON; MERTENS, 2010).

Inúmeros fatores predisõem ao desenvolvimento desta síndrome que, de maneira geral, está relacionada a alterações induzidas pela dieta nas vias de biohidrogenação ruminal, caracterizando a produção de intermediários específicos (figura 2), alguns dos quais possuem potente efeito anti-lipogênico (BAUMAN; GRIINARI, 2001; JENKINS; HAVARTINE, 2014). Um destes intermediários é o 10*t*, 12*c*-CLA, composto bioativo que representa em média, 3 a 5% do total de CLA na gordura do leite (KHANAL; OLSON, 2004). A partir de infusão duodenal (Maxin et al., 2011) e abomasal (Lor; Herbein, 2003) de 10*t*, 12*c*-CLA, já foi demonstrada redução de 15% e 24,5%, respectivamente, no conteúdo de gordura do leite. Em outros trabalhos (Baumgard; Sangster; Bauman, 2001; Bauman; Griinari, 2001), foi determinado que mesmo pequenas quantidades de 10*t*, 12*c*-CLA exercem efeito sobre o teor de gordura no leite, podendo a redução chegar a 50% (MAXIN et al., 2011).

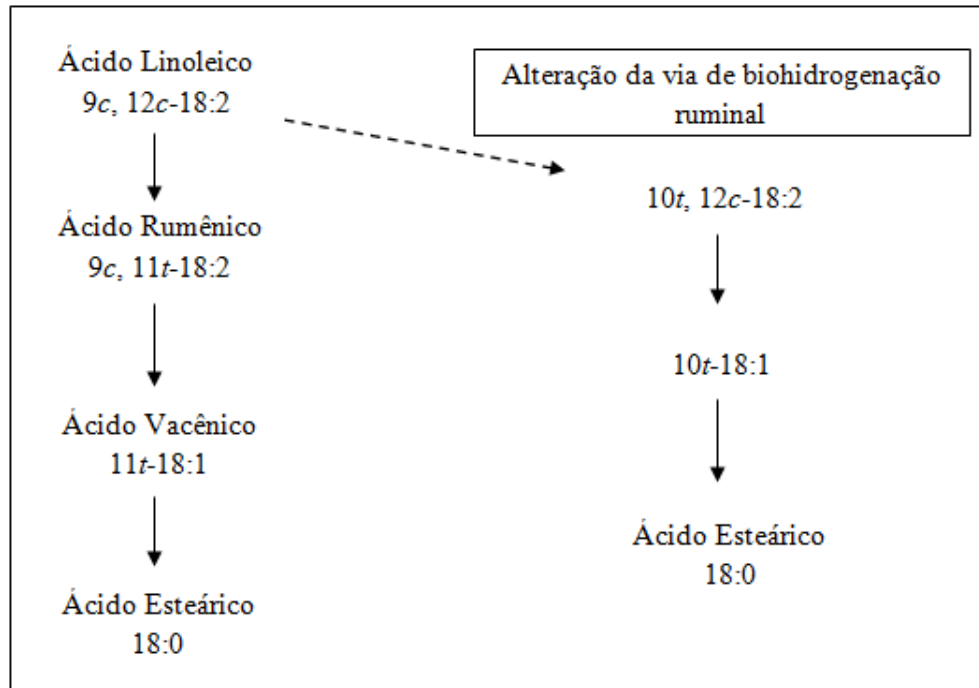


Figura 2. Vias de biohidrogenação ruminal do ácido linoleico em condições normais (lado esquerdo) e durante a depressão da gordura do leite induzida pela dieta (lado direito). Adaptado de Bauman; Griinari (2001).

Embora o teor de $10t, 12c$ -CLA no leite apresente forte correlação com a DGL ($R^2 = 0,93$; de Veth et al., 2004), este único isômero não explica completamente a ocorrência deste fenômeno. Onetti et al. (2001) relataram que a inclusão de gordura na dieta de vacas Holandesas promoveu queda da gordura do leite, porém não observaram diferença no teor de $10t, 12c$ -CLA para vacas suplementadas ou não com fontes lipídicas. Tem sido proposto que outros intermediários da biohidrogenação ruminal incompleta de AGPI devem estar envolvidos na regulação da síntese lipídica (BAUMAN; GRIINARI, 2001). Piperova et al. (2000) encontraram aumento de 8 vezes de AG t -18:1 no leite de vacas alimentadas com dieta indutora de DGL, sendo $10t$ -18:1 o isômero predominante (60% do total de AG t -18:1). Os autores também notaram proporção significativamente maior de $7t, 9c$ -CLA (7,8 vs. 23,4 g/100g do total de CLA) e aumento de 10 vezes dos isômeros CLA contendo uma ligação dupla *trans*-10. Em outro estudo (Shingfield et al., 2010), foi sugerido que $9t, 11c$ -CLA, $10c, 12t$ -CLA e $10t$ -18:1 podem inibir a lipogênese mamária.

Os mecanismos biológicos através dos quais alguns ácidos graxos induzem a DGL ainda não foram totalmente elucidados. Em diversos trabalhos (Baumgard et al., 2000; Piperova et al., 2000; Baumgard; Sangster; Bauman, 2001; Loor et al., 2005) foi evidenciado

que os AG bioativos podem reduzir a síntese *de novo* de AGCCM no tecido mamário. Outros (Jenkins; Havartine, 2014) concluíram que estes AG inibem a incorporação de AGCL sanguíneos na gordura do leite.

De acordo com Baumgard et al. (2002), o $10t, 12c-18:2$ diminui a expressão de genes que codificam enzimas envolvidas na absorção e transporte dos AG circulantes, na síntese *de novo*, na dessaturação de AG e na formação de triacilgliceróis. Com base em extensa revisão de literatura, Shingfield et al. (2010) evidenciaram que a regulação negativa da transcrição de algumas enzimas (acetil-CoA carboxilase e lipoproteína lipase) e proteínas (proteínas de ligação ao elemento regulador dos esteróis) durante a DGL prejudica a síntese lipídica no tecido mamário. Em estudo anterior, os autores mostraram que os ácidos graxos $10t-18:1$ e $10t, 12c-18:2$ inibem a transcrição e atividade do mRNA responsável pela síntese das enzimas lipogênicas ácido graxo sintase e acetil-CoA carboxilase (PIPEROVA et al., 2000).

Ambas as atividade e expressão gênica da enzima Δ^9 -dessaturase também podem ser inibidas pelo $10t, 12c-18:2$ (BRETILLON et al., 1999; CHOI et al., 2000; PERFIELD II et al., 2006). Looor e Herbein (2003) mostraram que a infusão abomasal de 15 g/dia de $10t, 12c-18:2$ por 2 dias prejudicou a dessaturação de alguns ácidos graxos na glândula mamária, o que foi comprovado por maior concentração de ácido esteárico e de $11t-18:1$ na gordura do leite associada a menor produção de $9c, 11t-18:2$.

Portanto, a suplementação de vacas leiteiras com fontes lipídicas ricas em AGI pode afetar a produção de gordura do leite de duas maneiras: fornecendo substrato adicional à formação dos AG bioativos (Dhiman et al., 2000; Bauman; Griinari, 2001) ou fornecendo mais AG pré-formados para incorporação direta na gordura do leite. A ocorrência da DGL induzida pela dieta depende do equilíbrio entre a menor produção de gordura provocada pelos AG bioativos e a maior oferta dietética de AGCL (STOFFEL; CRUMP; ARMENTANO, 2015).

2.6 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e inevitável e constitui um dos principais fatores deteriorantes do leite. Durante este processo, as ligações duplas dos AGI são atacadas por compostos oxidantes, como os radicais livres. O hidrogênio ligado ao carbono da molécula lipídica é abstraído e, em seu lugar, é inserido oxigênio, com subsequente formação de radicais peroxil e hidroperóxidos (YIN; XU; PORTER, 2011). A partir destes, aldeídos

voláteis e compostos carbonilo são produzidos, os quais levam ao desenvolvimento de sabor oxidado característico (FRANKEL, 1991). Além de ser responsável pela formação de compostos de sabor e odor desagradáveis (*off flavors* e *off odors*), de característica rançosa, a lipoperoxidação acarreta em prejuízos ao tempo de prateleira do produto e à sua qualidade nutricional, tornando o leite impróprio para consumo (HEDEGAARD et al., 2006).

O processo global da oxidação de lipídeos consiste em três etapas: iniciação, propagação e terminação. Na etapa de iniciação, pró-oxidantes como o radical hidroxil ($\text{OH}\cdot$) abstraem o hidrogênio alílico do ácido graxo insaturado (RH) formando um radical lipídico ($\text{R}\cdot$). Na fase de propagação, o radical lipídico reage rapidamente com o oxigênio formando um radical peroxil ($\text{ROO}\cdot$), que abstrai o hidrogênio de outra molécula lipídica gerando um hidroperóxido lipídico (ROOH) e um novo radical lipídico, que continua a reação em cadeia, em um processo auto-catalítico. Na reação de terminação, os radicais livres formados nas etapas anteriores combinam-se, produzindo produtos estáveis e não reativos (figura 3). Uma vez que a lipoperoxidação é iniciada, a propagação das reações em cadeia ocorrerá até que os produtos de terminação sejam produzidos (YIN; XU; PORTER, 2011).

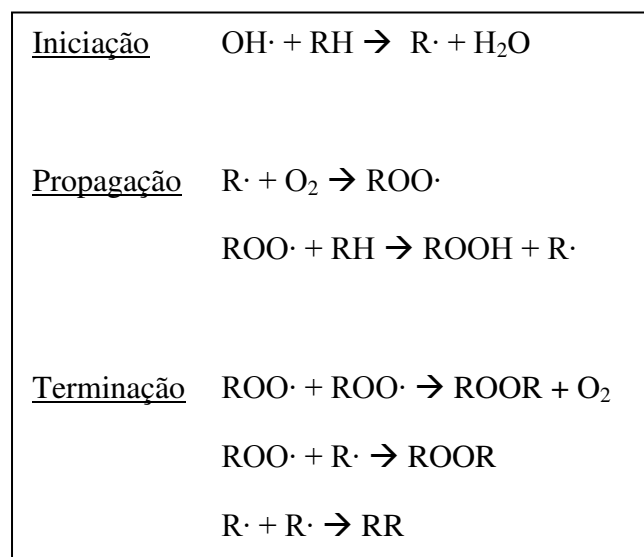


Figura 3. Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica. Adaptado de Ayala; Muñoz; Argüelles, 2014.

Os hidroperóxidos produzidos no decorrer da fase de propagação são os principais produtos primários da oxidação lipídica. Em condições moderadas, como temperatura baixa e ausência de íons metálicos, são mais estáveis do que os radicais livres. Uma vez formados podem ser alvo de diversas reações de redução, resultando em inibição ou indução de dano

peroxidativo (AYALA; MUÑOZ; ARGÜELLES, 2014). A mensuração dos hidroperóxidos produzidos serve como índice da oxidação lipídica em alimentos (GRAY, 1978; WANG; JIANG; LIN, 1995). Todavia, como são compostos instáveis, sua mensuração é limitada às fases iniciais da oxidação lipídica (SEVANIAN; HOCHSTEIN, 1985).

A partir da decomposição dos hidroperóxidos, são formados compostos de natureza muito diversa, aldeídos, cetona, hidroxiácidos, hidrocarbonetos e polímeros, os quais são genericamente designados como produtos secundários (JADHAV et al., 1996). Um dos principais é o malonaldeído, um aldeído com três átomos de carbono (ST. ANGELO, 1996). Uma vez formado, pode ser enzimaticamente metabolizado ou reagir com proteínas celulares e DNA, resultando em danos biomoleculares (AYALA; MUÑOZ; ARGÜELLES, 2014). Assim como os hidroperóxidos, a quantidade de malonaldeído também serve como indicador da extensão da oxidação lipídica em um alimento (KUBOW, 1992).

Diversos fatores, como o número e a natureza das insaturações dos ácidos graxos, a exposição à luz, ao calor e a metais pesados, a presença de pró-oxidantes ou de antioxidantes, presença de enzimas, metaloproteínas e micro-organismos, e as condições de armazenamento são determinantes à estabilidade oxidativa dos lipídeos (NAWAR, 1985; VELASCO; ANDERSEN; SKIBSTED, 2004; FLORA, 2009; CLAUSEN et al., 2010).

2.6.1 Influência da dieta sobre a estabilidade oxidativa do leite

A resistência da gordura à oxidação em condições conhecidas é definida como estabilidade oxidativa. É expressa como o tempo necessário para atingir um determinado ponto final (ex. desenvolvimento de rancidez, detecção de sabores indesejáveis, índice de peróxidos), que geralmente corresponde a aumento súbito na taxa de oxidação (VELASCO; ANDERSEN; SKIBSTED, 2004). Utilizada como parâmetro global para avaliar a qualidade de óleos e gorduras, reflete as condições da matéria-prima, e do processamento e estocagem do produto (HILL, 1994).

A estabilidade oxidativa do leite e seus derivados depende da composição química da gordura, que é mais susceptível à oxidação conforme há aumento do teor de AGI (Sidhu, Brown; Johnson, 1975; Timmons et al., 2001), principalmente de ácido linolênico (HAVEMOSE et al., 2006). O perfil de ácidos graxos do leite é reflexo da composição da dieta oferecida aos animais (LOOR et al., 2005; MURPHY; COAKLEY; STANTON, 2008; REGO et al., 2009). Portanto, a inclusão de lipídeos insaturados na dieta de bovinos leiteiros

pode predispor a gordura do leite à deterioração (Focant et al., 1998; Smet et al., 2009), cuja extensão varia de acordo com a fonte lipídica utilizada (CHARMLEY; NICHOLSON, 1994; VELASCO; ANDERSEN; SKIBSTED, 2004). Hedegaard et al. (2006) compararam a estabilidade oxidativa de três tipos de leite, sendo rico em ácidos graxos de cadeia curta (tipo I), alto teor de AGI (tipo II) e rico em AGS (tipo III), através de análises químicas e sensorial. Os autores concluíram que o leite tipo II foi o mais susceptível à oxidação, o que foi inclusive detectado por variações indesejáveis nas características organolépticas do produto, como aumento da detecção de sabor metálico, sabor e odor de papelão e de leite fervido.

Processos oxidativos também são influenciados pelo número, posição e configuração das ligações duplas dos AGI (KAYLEGIAN; LINDSAY, 1995). Em estudo recente, Rafalowski et al. (2014) observaram que os isômeros *cis* e *trans* do 18:1 e o CLA foram particularmente importantes na redução da estabilidade oxidativa do leite. AGCL e AGI afetam negativamente o funcionamento de algumas enzimas (superóxido dismutase e glutationa-peroxidase) importantes para a regulação da taxa oxidativa da gordura (Zhao et al., 2013), acelerando a formação de hidroperóxidos lipídicos (HAVEMOSE et al., 2006). Durante os processos oxidativos, as ligações duplas dos AGI são atacadas por radicais livres, o que faz com que a quantidade de ligações insaturadas seja determinante à formação dos produtos da oxidação (KORYCKA-DAHL; RICHARDSON, 1980; BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2004).

Os efeitos nocivos dos radicais livres são minimizados pela ação combinada de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, produzidos pelo próprio organismo ou absorvidos da dieta (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Com este advento, pesquisadores têm investigado a inclusão de antioxidantes na dieta de bovinos leiteiros, obtendo resultados satisfatórios (ST-LAURENT et al., 1990; AL-MABRUK; BECK; DEWHURST., 2004).

2.7 Antioxidantes

Antioxidantes são substâncias capazes de inibir ou retardar a oxidação mesmo quando presentes em concentração menor do que o substrato oxidável - carboidratos, DNA, lipídeos e proteínas (Halliwell; Gutteridge, 1989; Sies; Stahl, 1995; Flora, 2009), protegendo os sistemas biológicos contra os efeitos potencialmente prejudiciais dos processos oxidativos (KRINSKY, 1992). Para a indústria alimentícia, sua importância reside na capacidade de

preservar os alimentos através do atraso da deterioração, rancidez ou alterações na cor decorrentes da oxidação (ADEGOKE et al., 1998).

O estudo de substâncias capazes de prevenir a ocorrência da lipoperoxidação é prática antiga. Claude Berthollet (1797) e Humphry Davy (1817) foram os primeiros a registrar cientificamente a inibição de reações oxidativas por determinados compostos. Em 1886, Duclaux evidenciou o oxigênio atmosférico como principal causador da oxidação de ácidos graxos livres. Já em 1908, Tsujimoto demonstrou que a oxidação de acilglicerois insaturados provocava odor de ranço em óleo de peixe (WANASUNDARA; SHAHIDI, 2005).

O primeiro relato da utilização de antioxidantes em produtos alimentícios foi feito por Wright, em 1852. Este estudioso observou que índios americanos do Vale de Ohio preservavam gordura de urso com casca de ulmeiro (Wanasundara; Shahidi, 2005), cuja capacidade antioxidante foi demonstrada mais tarde (JUNG; HEO; WANG, 2008). Para avaliação da qualidade dos antioxidantes, algumas características desejáveis são investigadas: eficácia em baixas concentrações (0,001 a 0,01%); ausência de efeitos tóxicos ou nocivos à cor, odor, sabor e a outras características sensoriais do alimento; compatibilidade com o alimento e fácil aplicação; estabilidade nas condições de processo e armazenamento (BAILEY, 1996).

Os antioxidantes podem ser classificados de diferentes maneiras de acordo com sua estrutura, ocorrência, cinética ou solubilidade (FLORA, 2009). Baseando-se em seu mecanismo de ação, os antioxidantes são classificados em primários (compostos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, através da doação de átomos de hidrogênio), sinergistas (potencializadores da atividade dos antioxidantes), removedores de oxigênio (capturam o oxigênio presente no meio, indisponibilizando-o para atuar como propagador da reação oxidativa), biológicos (enzimas com capacidade de remover o oxigênio ou compostos altamente reativos dos sistemas sujeitos à oxidação), agentes quelantes (complexam íons metálicos, que catalisam a oxidação lipídica) e mistos (dois ou mais mecanismos de ação combinados) (BAILEY, 1996; WANASUNDARA; SHAHIDI, 2005). De maneira geral, são responsáveis por impedir a formação ou ataque dos radicais livres. Uma vez que estes já estejam formados, os antioxidantes são capazes de reparar as lesões causadas pelos radicais, através da reconstituição das membranas celulares danificadas (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

2.7.1 Vitamina E

O termo vitamina E engloba um conjunto de oito vitâmeros, divididos em dois grupos que diferem entre si pela saturação da cadeia lateral. Os tocotrienóis possuem cadeia lateral insaturada com três duplas ligações; e os tocoferóis, cadeia saturada (BJØRNEBOE; BJØRNEBOE; DREVON, 1990). Os compostos de ambos os grupos são identificados pelos prefixos α , β , γ e δ (figura 4), sendo o α -tocoferol o mais ativo biologicamente e o principal antioxidante ligado à membrana celular (FLORA, 2009).

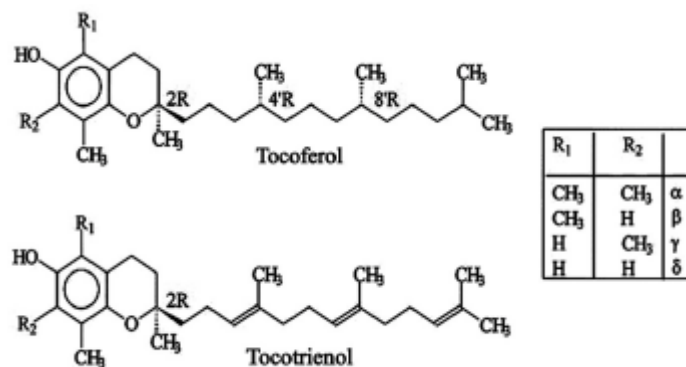


Figura 4. Estrutura química da vitamina E. Fonte: Guinaz et al., 2009.

A vitamina E pertence ao grupo de vitaminas lipossolúveis e é encontrada em ampla variedade de alimentos, dentre estes os óleos vegetais (SEN; KHANNA; ROY, 2006). Reconhecida como um antioxidante natural, exibe papel de suma importância na prevenção da oxidação lipídica em decorrência da sua capacidade detoxificadora e quelante dos produtos da lipoperoxidação (Flora, 2009), reduzindo a concentração celular e tecidual de espécies reativas ao oxigênio e de hidroperóxidos lipídicos (McDOWELL et al., 1996). A nível celular, o α -tocoferol impede a propagação dos eventos oxidativos por doação de hidrogênio fenólico ao radical peroxil, favorecendo a formação de radicais menos reativos, como o alfa-tocoferoxil (FANG; YANG; WU, 2002). O átomo de hidrogênio ativo dos tocoferóis é abstraído pelos radicais livres com maior facilidade que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas (Ramalho; Jorge, 2006), favorecendo a oxidação destes compostos em detrimento da oxidação dos ácidos graxos insaturados.

A eficiência de absorção da vitamina E é baixa (cerca de 30% da ingestão oral) e está intimamente relacionada à digestão e absorção de gorduras (Baldi, 2005), devido à sua lipossolubilidade. Cereais integrais e forragens frescas são excelentes fontes de vitamina E.

No entanto, quando os alimentos estão sujeitos a condições que favorecem a oxidação (presença de calor, oxigênio, umidade, gordura e minerais), o teor da vitamina é negativamente afetado (McDOWELL et al., 1996). Quando o alimento é processado (ensilagem de volumosos, moagem de grãos) e armazenado, ocorrem perdas substanciais na atividade da vitamina E, em decorrência da instabilidade dos tocoferóis de ocorrência natural (DOVE; EWAN, 1991). Dietas de confinamento são caracterizadas pela utilização de forrageiras ensiladas como fonte de volumoso (McDowell et al., 1996), o que pode prejudicar o status de vitamina E dos animais. Em estudo recente, Rafalowski et al. (2014) demonstraram elevada variabilidade sazonal no teor de α -tocoferol no leite. Os autores notaram que a concentração deste composto no leite depende fortemente da estação do ano e da dieta, sendo maior em épocas em que o gado tem acesso livre à pastagem.

No manejo de vacas leiteiras é comum a adição de suplementos lipídicos insaturados visando o incremento energético da dieta e melhora do desempenho produtivo dos animais, além de maior proporção de AGI no leite (CHARMLEY; NICHOLSON, 1994). Segundo McDowell et al. (1996), a inclusão dietética de AGI aumenta as exigências de vitamina E, uma vez estes ácidos graxos são mais susceptíveis à oxidação. A suplementação com vitamina E eleva a concentração de α -tocoferol no plasma, o que é refletido no leite (AL-MABRUK; BECK; DEWHURST, 2004). Rafalowski et al. (2014) observaram correlação linear positiva entre a estabilidade oxidativa do leite e o teor de α -tocoferol na gordura do leite ($r = 0,760$). De acordo com recomendações do NRC (2001), vacas lactantes devem ingerir 20 UI de vitamina E/kg de matéria seca consumida.

2.7.2 Selênio

O selênio (Se) é um micronutriente essencial à nutrição humana e animal, encontrado em diferentes ambientes biogeoquímicos na forma orgânica (incorporado a aminoácidos essenciais, como a metionina e a cisteína) ou inorgânica (sais minerais inorgânicos, como selenato de sódio, seleneto de sódio ou selenito de sódio) (COMBS JR, 2001). Foi descoberto por Berzelius em 1817; e durante muito tempo, considerado um veneno em razão da estreita margem entre os níveis de exigência e de toxidez (GIERUS, 2007). Somente em 1957, Schwarz et al. (1957) e Schwarz e Foltz (1957) reconheceram o Se como fator importante à prevenção do desenvolvimento de lesões vasculares, musculares e hepáticas em animais experimentais.

Já em 1973, Rotruck et al. (1973) descobriram que a enzima glutationa-peroxidase (GSH-Px) continha Se como componente essencial do seu centro catalítico, evidenciando sua importância na regulação de processos oxidativos e na proteção da membrana celular. O termo glutationa-peroxidase engloba um conjunto de quatro enzimas seleno-dependentes, intracelulares, presentes em diferentes tecidos, cuja principal função é catalisar a redução do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e de hidroperóxidos orgânicos (ROOH) a água (H₂O) e alcoóis (ROH) correspondentes, utilizando a glutationa (GSH) como agente redutor (figura 5) (Brigelius-Flohé; Traber, 1999; Patching; Gardiner, 1999), minimizando, assim, os efeitos deletérios causados pelo excesso de radicais livres, e retardando o envelhecimento celular. Portanto, as GSH-Px desempenham papel significativo na proteção contra o dano oxidativo resultante da lipoperoxidação de ácidos graxos poliinsaturados, atuando em sinergia com o tocoferol (TAPIERO; TOWNSEND; TEW, 2003). Diversos pesquisadores já evidenciaram a correlação entre as funções da vitamina E e do Se (AMMERMAN; MILLER, 1975; McDOWELL et al., 1996; BALDI, 2005).

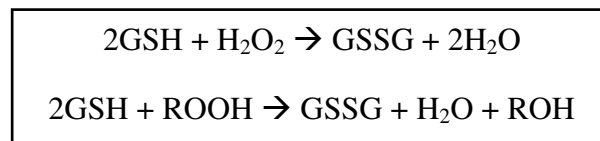


Figura 5. Ação da enzima glutationa-peroxidase (GSSG = glutationa oxidada). Adaptado de Tapiero, Townsend e Tew (2003).

Além das GSH-Px, outras selenoproteínas com capacidade antioxidante, também desempenham papel importante na remoção de H₂O₂ e de hidroperóxidos lipídicos (Gong et al., 2014), garantindo a manutenção do equilíbrio redox do organismo (BRIGELIUS-FLOHÉ; TRABER, 1999).

Para que o Se seja incorporado às selenoproteínas funcionais, é necessário que as formas orgânicas e inorgânicas sejam reduzidas a seleneto (Se⁻²) que, por sua vez, será metabolizado a selenocisteína (GIERUS, 2007). Cerca de 80% do Se presente no organismo animal está ligado ao aminoácido cisteína (HEFNAWY; TÓRTORA-PÉREZ, 2010). Dessa maneira, a essencialidade deste micronutriente está fortemente atrelada às funções das selenocisteínas (COMBS JR, 2001).

Em situações de deficiência de Se, é comum a ocorrência de depressão da síntese e da atividade das enzimas seleno-dependentes (Brigelius-Flohé; Traber, 1999; McDowell et al.,

1996), o que pode resultar em danos celulares como consequência do acúmulo de radicais livres (TAPIERO; TOWNSEND; TEW, 2003). Portanto, o Se está no centro do mecanismo de defesa do organismo contra os efeitos do estresse oxidativo (PATCHING; GARDINER, 1999; HEFNAWY; TÓRTORA-PÉREZ, 2010).

A quantidade de Se no organismo animal depende diretamente da dieta e reflete o teor do mineral presente no solo (COMBS JR, 2001). Assim, a deficiência ocorre quando o solo é pobre neste micronutriente ou contém altos níveis de elementos antagonistas (Hefnawy; Tórtora-Pérez, 2010), acarretando em baixa concentração de Se em forrageiras e grãos e, como consequência, em toda a cadeia alimentar (TAPIERO; TOWNSEND; TEW, 2003; CEBALLOS et al., 2009). Gabos, Alleoni e Abreu (2014), a partir de estudo que analisou a concentração de Se em solos tropicais no estado de São Paulo, concluíram que os solos da região são deficientes, com teor médio de 0,19 mg/kg.

Os ruminantes, principalmente os pequenos ruminantes, parecem ser particularmente sensíveis à deficiência de selênio. Isso é explicado pelas significativas perdas que ocorrem no ambiente retículo-rúmen como consequência da incorporação deste mineral à proteína microbiana pelos micro-organismos ruminais, associada à conversão do Se a formas insolúveis. O Se microbiano é caracterizado predominantemente por selenometionina de baixa eficiência metabólica. A biodisponibilidade deste oligoelemento para ruminantes é baixa, variando entre 11 e 35% (HEFNAWY; TÓRTORA-PÉREZ, 2010). Prática comum nos dias de hoje, a suplementação com Se ajuda a manter níveis adequados deste mineral no organismo animal, que, muitas vezes, não tem sua necessidade atendida pelos ingredientes dietéticos (COMBS JR, 2001; GONG et al., 2014).

A inclusão de Se na dieta de vacas lactantes, seja na forma orgânica (Clausen et al., 2010), ou na forma inorgânica (Gierus; Schwarz; Kirchgessner, 2002), é eficiente em aumentar o teor deste mineral no leite. No entanto, o efeito é mais pronunciado quando os animais são suplementados com fontes orgânicas de Se (CEBALLOS et al., 2009; CALAMARI; PETRERA; BERTIN, 2010). Segundo Knowles et al. (2006), a capacidade de resposta do leite à suplementação dietética dos animais com Se é considerada alta. Em extensa revisão de literatura, Ceballos et al. (2009) observaram que, como resposta à suplementação oral com Se, houve aumento médio de 0,16 $\mu\text{mol/L}$ na concentração deste nutriente no leite, variando significativamente de acordo com o local do estudo, fonte e dose de Se utilizadas. De maneira geral, vacas leiteiras suplementadas com o micronutriente apresentam melhor estado antioxidante, evidenciado pela intensa atividade sérica da enzima GSH-Px e pelo

menor teor de malonaldeído no soro sanguíneo (GONG et al., 2014). O NRC (2001) fixou em 0,3 mg/kg de MS a exigência nutricional de Se para estes animais.

2.8 Análise sensorial de alimentos

Fatores como o tipo de processamento (Chapman; Boor, 2001; Gandy et al., 2008) e de embalagem (Kim; Lopetcharat; Drake, 2013), e a dieta das vacas (Croissant, et al., 2007) afetam a aceitação de produtos lácteos pelos consumidores. Neste contexto, a análise sensorial é considerada uma ferramenta analítica importante para a indústria alimentícia, pois contribui com o desenvolvimento de novos produtos e controle de qualidade (PAL; SACHDEVA; SINGH, 1985). Através da avaliação subjetiva dos atributos cor (aparência), odor, textura e sabor, é possível analisar de forma científica e objetiva características que o consumidor considera determinantes à escolha de um produto (OLIVEIRA, 2009).

O teste de aceitação consiste em medir o gostar ou preferência por um produto. É de extrema importância para a indústria de alimentos, pois ajuda a estimar a aceitabilidade dos produtos pelos consumidores. Com isso, é possível evitar que sejam feitos investimentos em produtos que apresentam deficiências sensoriais. Diferentes metodologias podem ser empregadas, sendo a escala hedônica de nove pontos a mais utilizada por ser de fácil compreensão dos avaliadores e por apresentar resultados confiáveis (STONE; SIDEL, 2004).

Por sua vez, testes de diferença são aplicados quando a intenção é que os avaliadores apontem as diferenças existentes entre dois ou mais produtos (CARPENTER; LYON; HASDELL, 2000). No teste de diferença do controle, pede-se aos avaliadores que indiquem o grau de diferença observada entre uma amostra padrão e as amostras-teste, sendo uma amostra controle codificada introduzida entre estas (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999). As amostras-teste são classificadas com o auxílio de uma escala que pode variar de “não diferente” a “extremamente diferente” (CARPENTER; LYON; HASDELL, 2000).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local, instalações, animais

O experimento foi realizado na fazenda experimental da APTA em Ribeirão Preto, SP, no período de outubro a dezembro de 2012. Foram utilizadas 32 vacas leiteiras da raça Jersey,

de 30 a 60 dias em lactação e produção média de 9,44 kg de leite/dia. A ordenha era realizada duas vezes por dia (6:00 e 15:00) e medidas gerais de higiene (pré e pós-*dipping*) eram adotadas. No período entre as ordenhas, os animais ficaram alojados em instalação do tipo *free-stall*, em baias individuais.

3.2 Delineamento e dietas experimentais

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em um dos quatro tratamentos dietéticos: C) controle; O) inclusão de 4% de óleo de girassol (% na MS); SE) inclusão de 3.000 UI de vitamina E/d + 3,5 mg de selênio/kg de MS; OSE) inclusão de 4% de óleo de girassol + 3.000 UI de vitamina E/d + 3,5 mg de selênio/kg de MS, permanecendo no mesmo tratamento durante todo o período experimental (12 semanas). Os animais foram alimentados com dieta total contendo 50% de volumoso (80% silagem de milho e 20% feno de *coast-cross*) e 50% de concentrado. As dietas foram formuladas para serem isoenergéticas e isoprotéicas, de forma a atender às exigências nutricionais de vacas com aproximadamente 370 kg de peso corporal, com produção de leite de 12 kg por dia e 3,5% de gordura, conforme recomendações do NRC (2001). Os ingredientes das dietas experimentais encontram-se na tabela 1.

Tabela 1 - Ingredientes das dietas experimentais

Item, % de MS, exceto quando indicado	Dietas			
	C	O	SE	OSE
Silagem de milho	40,00	40,00	40,00	40,00
Feno de coast-cross	10,00	10,00	10,00	10,00
Fubá de milho	25,03	21,03	25,03	21,03
Farelo de soja	18,00	18,00	18,00	18,00
Farelo de trigo	4,00	4,00	4,00	4,00
Ureia	0,90	0,90	0,90	0,90
Sal Comum	0,50	0,50	0,49	0,49
Premix Mineral ¹	1,00	1,00	1,00	1,00
Sulfato de Amônia	0,04	0,04	0,04	0,04
Bicarbonato de sódio	0,53	0,53	0,53	0,53
Óleo de Girassol	-	4	-	4
Selênio (mg/kg de MS)	-	-	3,5	3,5
Vitamina E (UI)	-	-	3.000	3.000

¹Composição por kg do produto: 80 g de enxofre, 20 g de magnésio, 20 g de potássio, 1.000 mg de manganês, 2.500 mg de zinco, 1.500 mg de cobre, 100 mg de cobalto, 80 mg de iodo, 20 mg de selênio, 180 g de cálcio, 90g de potássio, 300 mg (máx.) de flúor.

O selênio foi fornecido na forma de seleniometionina (Lallemand®); e a vitamina E, na de acetato de tocoferol, ambos misturados ao concentrado.

3.3 Análise de alimentos

As dietas foram fornecidas na forma de dieta completa duas vezes ao dia, às 8:30 e às 16:30, em porções de tamanho igual, garantindo sobras entre 5 e 10% do oferecido, com ajuste diário. Após preparo da mistura no cocho, amostras dos alimentos fornecidos foram coletadas e armazenadas a -20°C.

As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP). A composição químico-bromatológica das dietas experimentais encontra-se na tabela 2. Foram analisados os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM) e lignina de acordo com as metodologias descritas por AOAC (2000). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram obtidos conforme método descrito por Van Soest, Robertson e Lewis (1991), utilizando-se α -amilase e sem adição de sulfito de sódio na determinação do FDN, em sistema Ankon®.

Tabela 2 - Composição químico-bromatológica das dietas experimentais, sendo os valores expressos em porcentagem da matéria-seca.

Composição	Dieta Total ¹			
	C	SE	O	OSE
MS	62,39	62,58	62,65	62,69
PB	20,30	18,71	18,37	20,32
EE	2,51	2,51	4,27	4,14
MM	7,00	8,03	7,94	7,84
FDN	34,87	34,96	34,65	34,74
FDA	20,36	20,40	20,79	20,68
Lignina	2,85	2,94	2,90	2,92
Energia (cal/g)	4033,38	3997,37	4082,07	4094,70
Ca (g/kg)	12,33	9,17	9,50	9,24
P (g/kg)	4,23	5,70	4,72	5,56
Mg (g/kg)	2,58	2,68	2,77	2,56
S (g/kg)	2,54	3,33	3,00	3,16
K (g/kg)	9,11	9,07	8,85	8,92
Se (mg/kg)	0,18	2,98	0,23	3,16
Fe (mg/kg)	680,32	821,13	743,15	813,30
Cu (mg/kg)	36,61	78,86	72,75	89,54
Zn (mg/kg)	120,66	193,67	176,56	186,61
Mn (mg/kg)	85,70	112,88	114,59	112,88

¹Animais alimentados com dieta controle (C); dieta com inclusão de 4% de óleo de girassol em relação à MS da dieta total (O); dieta com inclusão de 3.000 UI de vitamina E/kg de MS + 3,5 mg de selênio/kg de MS (SE); ou dieta com inclusão de 4% de óleo de girassol em relação à MS da dieta total + 3.000 UI de vitamina E/kg de MS + 3,5 mg de selênio/kg de MS (OSE).

3.4 Produção e composição do leite

A produção de leite foi registrada diariamente durante todo o período experimental. As amostras utilizadas para análise da composição do leite (gordura, proteína, lactose, sólidos totais) foram obtidas na última semana experimental, sendo cada amostra proveniente das duas ordenhas diárias. Para preservação das características físico-químicas, foram acondicionadas em frascos plásticos contendo 2-bromo-2-nitropropano-1,3 diol. Os componentes químicos do leite foram determinados por infravermelho, utilizando-se o aparelho BENTLEY 2000[®]. As análises foram realizadas na Clínica do leite da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP).

A produção de leite foi corrigida (PLC) para 3,5% de gordura segundo fórmula de Sklan et al. (1992), na qual $PLC = (0,432 = 0,1625 * \% \text{ de gordura do leite}) * \text{kg de leite}$. O

teor e a produção de sólidos desengordurados (SD) foram obtidos através da subtração da gordura dos sólidos totais.

3.5 Perfil de ácidos graxos da gordura do leite

Para caracterização do perfil de ácidos graxos, amostras de leite foram colhidas ao final da ordenha da manhã, diretamente do balão volumétrico, utilizando-se frascos plásticos com capacidade para 100 mL, sem adição de conservantes. As amostras foram coletadas na última semana experimental e congeladas a -18°C . As análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Crescimento Animal da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP).

Para separação da fração gordurosa, as amostras foram descongeladas à temperatura ambiente e, posteriormente, centrifugadas ($17.800\times g$, 30 minutos, 8°C). Da nata sobrenadante, eram retirados 400 mg para extração da gordura segundo Hara e Radin (1978). A metilação foi feita através do uso de solução metanólica de metóxido de sódio de acordo com Christie (1982). O perfil de ácidos graxos foi determinado por cromatografia gasosa (ThermoFinnigan[®], modelo Trace 2000), utilizando coluna capilar de sílica fundida, SP-2560 ($100\times 0,25\times 0,2$ mm; Supelco) e detector de ionização de chama. Utilizou-se hidrogênio como gás de arraste (fluxo: 1 mL/min) e as temperaturas do injetor e do detector foram de 250°C e 300°C , respectivamente. A razão da injeção das amostras (modo “split”) era de 25:1. O fluxo de ar foi ajustado a 460 mL/min; e o fluxo de nitrogênio (gás auxiliar), a 30 mL/min. A temperatura inicial era de 70°C , sendo elevada a 175°C 4 minutos após a primeira injeção, e assim mantida por 27 minutos. Por fim, a temperatura foi elevada a 215°C ($4^{\circ}\text{C}/\text{min}$) e mantida por 21 minutos.

Um padrão manteiga (CRM-164; Commission of the European Communities, Community Bureau of Reference, Brussels, Belgium), contendo valores certificados para alguns AG foi utilizado para determinar a recuperação dos AG e calcular os respectivos fatores de correção. A concentração dos AG é expressa em g/100g de ácidos graxos totais.

A qualidade nutricional da fração lipídica foi avaliada por três índices a partir dos dados de composição em ácidos graxos, através dos seguintes cálculos: índice de aterogenicidade (IA) = $[(\text{C}12:0 + (4 \times \text{C}14:0) + \text{C}16:0)]/(\Sigma \text{AGMI} + \Sigma \omega 6 + \Sigma \omega 3)$; índice de trombogenicidade (IT) = $(\text{C}14:0 + \text{C}16:0 + \text{C}18:0)/[(0,5 \times \Sigma \text{AGMI}) + (0,5 \times \Sigma \omega 6 + (3 \times \Sigma \omega 3) + (\Sigma \omega 3/\Sigma \omega 6)]$, segundo Ulbrich e Southgate (1991); e razão entre ácidos graxos

hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (h/H) = (C18:1 ω 9 + C18:2 ω 6 + C20:4 ω 6 + C18:3 ω 6 + C20:5 ω 3 + C22:5 ω 3 + C22:6 ω 3)/(C14:0 + C16:0), segundo Santos-Silva, Bessa, Santos-Silva (2002). Em que: AGMI = todos os ácidos monoinsaturados.

3.6 Taxa de oxidação do leite

Para acompanhamento dos produtos da oxidação, 500 mL de leite foram colhidos em recipientes plásticos diretamente do balão volumétrico, ao final da ordenha da manhã, na última semana experimental. As amostras foram levadas ao laboratório para extração da gordura do leite de acordo com Feng, Lock e Garnsworthy (2004). As análises foram realizadas no Laboratório de Melhoramento Animal “Dr. Gordon Dickerson” da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP).

Inicialmente, eram centrifugados 60 mL de leite fresco (17.800xg, 30 minutos, 4°C). Alíquotas de 1,0 g do sobrenadante eram transferidas para *ependorf* e novamente centrifugadas, à temperatura ambiente (19.300xg, 20 minutos). O índice de peróxidos (IP) no leite foi determinado conforme metodologia descrita por Shanta e Decker (1994; método preconizado pela International Dairy Federation). Do sobrenadante obtido após a segunda centrifugação, 100 μ L eram transferidos para tubo de ensaio contendo 9,8 mL de solução de clorofórmio-metanol (7:3 v/v). Após agitação em vórtex, foram adicionadas solução de tiocianato de amônio (50 μ L) e solução de Fe²⁺ (50 μ L). Após 5 minutos de incubação à temperatura ambiente foi realizada leitura da absorvância a 500 nm em espectrofotômetro (Agilent®, modelo 89090A; programa 8435UV-Visible System®), contra o branco (solução contendo todos os reagentes, menos a amostra). Todo o procedimento foi realizado em sala com luminosidade reduzida, sendo repetido nas mesmas amostras 24 e 96 horas após a primeira análise. De acordo com esta metodologia, os hidroperóxidos presentes na gordura do leite oxidam o Fe²⁺ a Fe³⁺, e as leituras da absorvância são realizadas sob a forma de tiocianato férrico.

A avaliação dos produtos secundários da oxidação foi realizada através da determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) segundo metodologia proposta por King (1962). Foram pipetados 17,6 mL de leite em frasco com tampa, sendo estes aquecidos a 30°C em banho-maria. Posteriormente, foram adicionados 1 mL de solução de ácido tricloroacético (1 g/mL) e 2 mL de etanol 95% sob agitação vigorosa. Após 5 minutos em repouso, a solução foi filtrada em filtro Whatman®, número 42. A 4 mL do

filtrado, foi adicionado 1 mL de solução de ácido tiobarbitúrico (1,4 g de ácido tiobarbitúrico/100 mL de etanol a 95%). A nova solução foi colocada em banho-maria a 60°C por 60 minutos e, após resfriamento, foi realizada leitura da absorbância a 532 nm em espectrofotômetro (Agilent[®], Modelo 89090A; programa 8435UV-Visible System[®]), usando água destilada como padrão. As análises foram realizadas no Laboratório de Aqüicultura da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP).

O teste TBARS é baseado na reação entre o ácido tiobarbitúrico e os produtos formados a partir a oxidação lipídica, principalmente o malonaldeído, formando um complexo de cor avermelhada.

3.7 Avaliação sensorial

Previamente ao procedimento da avaliação sensorial, o leite foi pasteurizado (72°C por 30 min) e padronizado a 3% de gordura. O leite foi envasado em embalagens plásticas estéreis de 1 L do tipo barriga mole, hermeticamente fechadas e previamente identificadas de acordo com o tratamento dietético.

Foram realizados os testes de aceitação e de diferença do controle em dias diferentes. Para ambos os testes foram recrutados 60 provadores não treinados, em função da disponibilidade e interesse em participar. Amostras de aproximadamente 50 mL foram servidas em copos plásticos idênticos à temperatura de refrigeração. Eram apresentadas aos provadores em seções separadas, em uma sala com iluminação uniforme e à temperatura ambiente. As amostras foram codificadas com um número de 3 dígitos e apresentadas aleatoriamente. A aceitabilidade do leite foi determinada através da avaliação dos atributos cor, odor, sabor e textura na boca, utilizando-se escala hedônica de nove pontos (onde 1 = detestei, 5 = nem gostei/nem desgostei, 9 = adorei) de acordo com Stone e Sidel (2004) (anexo A).

O teste de diferença do controle foi realizado conforme Meilgaard, Civille e Carr (1999), incluindo leite integral pasteurizado comprado em estabelecimento comercial como padrão. Foi utilizada escala básica de discriminação, seguida por medida da magnitude da diferença entre as amostras testes em relação ao padrão, variando de 1 = não é diferente a 9 = extremamente diferente, para avaliar os atributos odor e sabor (anexo B).

Os testes foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FZEA/USP. O número do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética é 10250412.0.0000.5422.

3.8 Análises estatísticas

A análise estatística foi realizada por meio do programa SAS (SAS Institute Inc., Cary, EUA), versão 9.1. Para os resultados de produção e composição do leite, perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa da gordura do leite, utilizou-se o PROC MIXED para análise de variância. A análise foi realizada considerando um delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 2 (com e sem óleo x com e sem antioxidante). Para as características produção e composição do leite, e perfil de ácidos graxos foram considerados como efeitos fixos o óleo, o antioxidante e a interação entre ambos. A característica estabilidade oxidativa da gordura do leite, avaliada através de TBARS e índice de peróxidos, foi analisada como medidas repetidas no tempo, considerando os efeitos fixos de óleo, o antioxidante e o tempo da avaliação, bem como as interações entre ambos. O animal foi considerado como efeito aleatório. As estruturas de covariância foram modeladas e a que apresentou melhor ajuste (não-estruturada) foi utilizada. Foi considerado nível de significância a 5%.

Os resultados da análise sensorial foram processados por meio da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação das médias obtidas no teste de aceitabilidade para os diferentes leites produzidos. Adicionalmente, o teste de Dunnett foi incluído para analisar os resultados do teste sensorial de diferença do controle. Foi considerado nível de significância a 5%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Produção e composição do leite

Os tratamentos dietéticos não influenciaram a produção e composição do leite de vacas da raça Jersey (tabela 3). Da mesma maneira, não houve efeito de interação entre o óleo e os antioxidantes (selênio e vitamina E) para nenhuma das variáveis avaliadas ($P > 0,05$).

Tabela 3 – Desempenho produtivo e composição do leite de vacas leiteiras suplementadas com óleo de girassol, selênio e vitamina E

Variável ¹	Tratamento				valor de P ²	
	Óleo		Antioxidantes		O	A
	Com	Sem	Com	Sem		
PL, kg/d	9,52±0,56	9,39±0,56	9,71±0,58	9,20±0,54	0,869	0,529
Gordura, %	3,99±0,19	3,71±0,18	3,92±0,18	3,77±0,19	0,302	0,583
Gordura, kg/d	0,36±0,02	0,33±0,02	0,35±0,02	0,34±0,02	0,457	0,783
PLC, kg/d	10,29±0,60	9,72±0,60	10,38±0,63	9,61±0,58	0,583	0,666
ST, %	12,29±0,29	12,04±0,28	12,27±0,28	12,07±0,29	0,545	0,637
ST, kg/d	1,14±0,06	1,11±0,06	1,15±0,07	1,11±0,06	0,771	0,672
SD, %	8,30±0,11	8,33±0,11	8,34±0,11	8,29±0,11	0,862	0,776
SD, kg/d	0,78±0,04	0,77±0,04	0,79±0,04	0,76±0,04	0,964	0,633
Proteína, %	2,84±0,10	2,86±0,10	2,88±0,10	2,82±0,10	0,876	0,672
Proteína, kg/d	0,26±0,01	0,26±0,01	0,26±0,01	0,26±0,01	0,933	0,755
Lactose, %	4,90±0,08	4,90±0,08	4,93±0,08	4,87±0,08	0,986	0,630
Lactose, kg/d	0,46±0,02	0,45±0,02	0,46±0,02	0,44±0,02	0,952	0,631

¹PL = produção de leite; PLC = produção de leite corrigida para 3,5% de gordura; ST = sólidos totais; SD = sólidos desengordurados.

²O = com óleo vs. sem óleo; A = com antioxidantes vs. sem antioxidantes

A produção de leite, embora não estatisticamente diferente, foi numericamente superior para vacas alimentadas com óleo de girassol (9,52 kg/d) em comparação com os tratamentos sem óleo (9,39 kg/d). Jenkins e Havartine (2014) demonstraram que a adição de gorduras na ração de bovinos leiteiros pode afetar de maneira positiva o desempenho produtivo dos animais, porque aumenta a densidade energética da dieta.

O efeito da suplementação dietética com óleos sobre o teor de gordura do leite não tem sido consistente. De acordo com Kalscheur et al. (1997), Bu et al. (2007), AbuGhazaleh e Holmes (2007) e Flowers, Ibrahim e AbuGhazaleh (2008), o teor de gordura do leite não é influenciado pela inclusão de lipídeos na dieta. Cruz-Hernandez et al. (2007) reportaram apenas efeito moderado do óleo de girassol sobre a gordura do leite. Em contraste, outros (Abughazaleh et al., 2002; Rego et al., 2005; Shingfield et al., 2006; Murphy; Coakley; Stanton, 2008; O'Donnell-Megaró et al., 2012) relataram redução acentuada do teor de gordura do leite com adição de óleo na dieta. Bauman e Griinari (2003) sugeriram que a depressão da gordura do leite está relacionada com a ação direta de ácidos graxos específicos derivados do metabolismo ruminal dos AGI dietéticos.

No presente estudo, apesar de não ser estatisticamente significativo, o teor de gordura foi maior para vacas suplementadas com óleo de girassol (3,99%) em comparação aos tratamentos sem óleo (3,71%), provavelmente como consequência da maior produção de leite e de gordura. A suplementação lipídica aumenta o consumo de energia líquida de lactação, o que resulta em melhor desempenho produtivo (BU et al., 2007). Esta diferença é de importância econômica para os produtores que são pagos com base no teor de gordura do leite.

A adição dietética de óleos não costuma influenciar outros parâmetros relacionados à produção e composição do leite (DHIMAN et al., 2000; REGO et al., 2005; ABUGHAZALEH; HOLMES, 2007; CRUZ-HERNANDEZ et al., 2007). Contudo, Murphy, Coakley e Stanton (2008) reportaram que quando a inclusão de fontes lipídicas promove melhora do status nutricional dos animais, isso é refletido por ganhos na produção de leite, de proteína e de lactose. Contrariamente, outros pesquisadores notaram que a inclusão de gordura na dieta de vacas lactantes reduz a produção e o teor de proteína no leite, como consequência do menor consumo de matéria seca (KALSCHEUR et al., 1997; ONETTI et al., 2001; SHINGFIELD et al., 2006).

Embora os tratamentos dietéticos não tenham influenciado o desempenho produtivo dos animais e a composição do leite, vale ressaltar que o leite estava de acordo com as exigências da legislação brasileira (artigo nº 476 do RIISPOA de 29/03/1952) quanto ao teor de gordura (mín. 3%), lactose (mín. 4,3%) e extrato seco total (mín. 11,5%), sendo classificado como leite cru normal e integral (BRASIL, 1952).

4.2 Perfil de ácidos graxos da gordura do leite

A suplementação dietética com óleo de girassol tem o potencial de afetar múltiplas variáveis relacionadas ao perfil de ácidos graxos da gordura do leite, e isso é demonstrado no presente trabalho (tabela 4). Por outro lado, para nenhum dos parâmetros analisados houve efeito da inclusão de selênio e vitamina E ou de interação entre o óleo de girassol e os antioxidantes ($P > 0,05$).

Tabela 4 – Composição de ácidos graxos da gordura do leite de vacas suplementadas com óleo de girassol, vitamina E e selênio

Variável ¹ (g/100 g de AG)	Tratamento				valor de P ²	
	Óleo		Antioxidantes		O	A
	Com	Sem	Com	Sem		
4:0	2,42±0,10	2,28±0,12	2,35±0,11	2,35±0,11	0,374	0,981
6:0	1,65±0,12	1,63±0,13	1,65±0,13	1,63±0,12	0,892	0,925
8:0	0,71±0,04	0,83±0,05	0,73±0,05	0,81±0,04	0,109	0,311
10:0	1,68±0,14	2,15±0,15	1,79±0,15	2,04±0,14	0,035	0,243
10:1	0,13±0,01	0,17±0,01	0,14±0,01	0,16±0,01	0,086	0,405
11:0	0,02±0,003	0,03±0,003	0,02±0,003	0,02±0,003	0,077	0,454
12:0	2,03±0,18	2,68±0,19	2,20±0,19	2,51±0,18	0,025	0,260
12:1	0,01±0,003	0,02±0,004	0,02±0,004	0,02±0,003	0,106	0,348
13:0	0,06±0,006	0,08±0,006	0,07±0,006	0,07±0,006	0,035	0,531
13:0 <i>iso</i>	0,03±0,002	0,04±0,002	0,03±0,002	0,03±0,002	0,060	0,697
13:0 <i>anteiso</i>	0,04±0,006	0,06±0,006	0,05±0,006	0,06±0,006	0,019	0,231
14:0	7,84±0,49	9,51±0,52	8,06±0,52	9,28±0,49	0,028	0,102
14:0 <i>iso</i>	0,10±0,007	0,10±0,008	0,09±0,008	0,11±0,007	0,411	0,357
9c-14:1	0,57±0,05	0,72±0,06	0,60±0,06	0,68±0,05	0,077	0,363
15:0	0,92±0,04	1,10±0,04	0,99±0,04	1,04±0,04	0,009	0,503
15:0 <i>iso</i>	0,23±0,01	0,29±0,01	0,26±0,01	0,26±0,01	0,008	0,872
15:0 <i>anteiso</i>	0,38±0,02	0,42±0,02	0,40±0,02	0,40±0,02	0,249	0,874
16:0	31,17±1,77	35,43±1,91	32,21±1,91	34,39±1,77	0,114	0,411
16:0 <i>iso</i>	0,23±0,01	0,27±0,01	0,24±0,01	0,26±0,01	0,183	0,521
9c-16:1	1,73±0,14	1,97±0,15	1,84±0,15	1,86±0,14	0,253	0,958
17:0	0,69±0,03	0,83±0,03	0,79±0,03	0,73±0,03	0,003	0,251
17:0 <i>iso</i>	0,46±0,01	0,45±0,01	0,46±0,01	0,45±0,01	0,538	0,469
17:1	0,24±0,03	0,29±0,03	0,27±0,03	0,25±0,03	0,357	0,681
18:0	16,32±0,95	12,38±1,02	15,14±1,02	13,56±0,95	0,009	0,267
6+7+8+9t-18:1	0,45±0,03	0,31±0,03	0,40±0,03	0,36±0,03	0,018	0,469
10+11+12t-18:1	2,21±0,14	1,18±0,15	1,74±0,15	1,65±0,14	< 0,0001	0,684
9c-18:1	20,64±1,72	18,59±1,86	20,42±1,86	18,82±1,72	0,426	0,533
11c-18:1	1,65±0,14	1,49±0,15	1,68±0,15	1,46±0,14	0,449	0,331
12c-18:1	0,89±0,07	0,83±0,08	0,91±0,08	0,81±0,07	0,568	0,375
13c-18:1	0,49±0,04	0,43±0,04	0,49±0,04	0,43±0,04	0,367	0,299
15c-18:1	0,05±0,004	0,03±0,004	0,04±0,004	0,03±0,004	0,016	0,141
16t-18:1	0,21±0,01	0,14±0,01	0,20±0,01	0,15±0,01	0,0007	0,030
18:2 ω6	1,52±0,10	1,43±0,10	1,52±0,10	1,43±0,10	0,549	0,574
9c, 11t-18:2	0,65±0,03	0,40±0,04	0,53±0,04	0,52±0,03	0,0001	0,800
18:3ω6	0,07±0,006	0,06±0,006	0,06±0,006	0,06±0,006	0,439	0,558
18:3ω3	0,10±0,009	0,11±0,01	0,11±0,01	0,10±0,009	0,539	0,528
20:0	0,06±0,004	0,06±0,004	0,07±0,004	0,06±0,004	0,554	0,100
20:1	0,07±0,007	0,07±0,008	0,08±0,008	0,06±0,007	0,667	0,074
20:2	0,0008±0,0001	0,0006±0,0002	0,0003±0,0002	0,001±0,0001	0,411	0,013
20:3ω6	0,004±0,001	0,004±0,001	0,003±0,001	0,005±0,001	0,756	0,458
20:3ω3	0,006±0,0009	0,005±0,001	0,007±0,001	0,004±0,0009	0,740	0,089
20:4ω6	0,03±0,006	0,03±0,007	0,03±0,007	0,03±0,006	0,803	0,800
20:5ω3	0,001±0,0004	0,001±0,0004	0,0008±0,0004	0,001±0,0004	0,867	0,249
21:0	0,005±0,0007	0,005±0,0008	0,005±0,0008	0,005±0,0007	0,912	0,912
22:0	0,01±0,002	0,005±0,003	0,01±0,003	0,008±0,002	0,061	0,450

Tabela 4 (continuação) – Composição de ácidos graxos da gordura do leite de vacas suplementadas com óleo de girassol, vitamina E e selênio

Variável ¹ (g/100 g de AG)	Tratamento				valor de P ²	
	Óleo		Antioxidantes		O	A
	Com	Sem	Com	Sem		
22:1 ω 9	0,003 \pm 0,001	0,005 \pm 0,001	0,004 \pm 0,001	0,004 \pm 0,001	0,448	0,968
22:2	0,001 \pm 0,0001	0,0008 \pm 0,0001	0,0008 \pm 0,0001	0,001 \pm 0,0001	0,621	0,621
22:5	0,02 \pm 0,002	0,02 \pm 0,002	0,02 \pm 0,002	0,02 \pm 0,002	0,452	0,446
22:6 ω 3	0,001 \pm 0,0002	0,001 \pm 0,0002	0,001 \pm 0,0002	0,001 \pm 0,0002	0,162	0,690
23:0	0,003 \pm 0,0007	0,004 \pm 0,0008	0,004 \pm 0,0008	0,003 \pm 0,0007	0,755	0,110
24:0	0,02 \pm 0,003	0,02 \pm 0,003	0,03 \pm 0,003	0,02 \pm 0,003	0,778	0,169
24:1	0,0003 \pm 0,0001	0,0004 \pm 0,0001	0,0005 \pm 0,0001	0,0001 \pm 0,0001	0,904	0,128
Total	99,03 \pm 0,08	99,04 \pm 0,09	98,98 \pm 0,09	99,09 \pm 0,08	0,948	0,396
Σ SAT	67,20 \pm 2,35	70,62 \pm 2,54	67,75 \pm 2,54	70,06 \pm 2,35	0,332	0,511
Σ INSAT	31,83 \pm 2,27	28,41 \pm 2,45	31,22 \pm 2,45	29,02 \pm 2,27	0,317	0,517
Σ MONO	29,40 \pm 2,16	26,32 \pm 2,33	28,91 \pm 2,33	26,81 \pm 2,16	0,341	0,516
Σ POLI	2,42 \pm 0,13	2,09 \pm 0,14	2,31 \pm 0,14	2,20 \pm 0,13	0,108	0,595
Σ ω 3	0,13 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,481	0,626
Σ ω 6	1,63 \pm 0,15	1,53 \pm 0,13	1,63 \pm 0,14	1,54 \pm 0,13	0,529	0,566
SAT/INS	2,43 \pm 0,33	2,83 \pm 0,36	2,45 \pm 0,36	2,81 \pm 0,33	0,425	0,481
ω 6/ ω 3	12,35 \pm 0,72	10,58 \pm 0,84	11,74 \pm 0,94	11,19 \pm 0,62	0,034	0,491
IA	2,35 \pm 0,40	3,08 \pm 0,49	2,43 \pm 0,41	3,00 \pm 0,48	0,121	0,225
IT	4,02 \pm 0,84	4,54 \pm 0,80	3,99 \pm 0,78	4,56 \pm 0,86	0,453	0,517
h/H	0,61 \pm 0,10	0,48 \pm 0,09	0,59 \pm 0,10	0,51 \pm 0,09	0,224	0,445

¹c = *cis*; t = *trans*; Σ SAT = Σ ácidos graxos saturados; Σ INSAT = Σ ácidos graxos insaturados; Σ MONO = Σ ácidos graxos monossaturados; Σ POLI = Σ ácidos graxos poliinsaturados; Σ ω 3 = Σ da série Ômega 3; Σ ω 6 = Σ da série Ômega 6; SAT/INS = saturados/insaturados; ω 6/ ω 3 = Σ da série Ômega 6/ Σ da série Ômega 3; IA = índice de aterogenicidade; IT = índice de trombogenicidade; h/H = Σ hipocolesterolêmicos/ Σ hipercolesterolêmicos.

²O = com óleo vs. sem óleo; A = com antioxidantes vs. sem antioxidantes

As proporções dos AGCCM (C10:0, C12:0 e C14:0) diminuíram no leite de vacas alimentadas com óleo de girassol (P<0,05) em comparação aos tratamentos sem inclusão de óleo. Este resultado é compatível com os achados de outros (Rego et al., 2005; Cruz-Hernandez et al., 2007; Rego et al, 2009), que relataram queda dos AGCCM quando óleo de girassol foi adicionado à dieta de vacas em lactação. Grummer (1991) demonstrou que a inclusão de óleos insaturados aumenta a secreção de AGI de cadeia longa na gordura do leite, ao mesmo passo que inibe a síntese *de novo* de AGCCM na glândula mamária.

Os ácidos láurico (C12:0), mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0) são considerados hipercolesterolêmicos (Ney, 1991), devido à sua capacidade de aumentar a concentração sérica de lipoproteínas de baixa densidade ligadas ao colesterol (LDL) (NORUM, 1992). Apesar de não ter sido encontrada diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos dietéticos para a relação h/H, foi observada redução de cerca de 25% e 18% no teor de C12:0

e C14:0, respectivamente, para as dietas com inclusão de óleo de girassol ($P < 0,05$), o que pode representar melhora da qualidade nutricional da gordura do leite.

Potenciais benefícios à saúde humana (Koba; Yanagita, 2014) têm despertado o interesse de pesquisadores no sentido de desenvolver estratégias nutricionais eficientes em aumentar o teor de $9c$, $11t-18:2$ na gordura dos alimentos derivados de ruminantes. No presente trabalho, a concentração de $9c$, $11t-18:2$ no leite passou de 0,40 para 0,65 mg/100 g de AG para os tratamentos sem e com óleo de girassol, respectivamente, ao final do período experimental. Esta relação de causa e consequência entre fontes de gordura insaturada incluídas na dieta animal e elevado teor de $9c$, $11t-18:2$ na gordura do leite já é bastante reconhecida na literatura (KHANAL; OLSON, 2004; COLLOMB et al., 2006; WOODS; FEARON, 2009). Embora a concentração de $9c$, $11t-18:2$ encontrada neste estudo seja menor do que as relatadas por outros autores quando utilizados óleos vegetais ricos em ácido linoleico (Bu et al., 2007; He; Armentano, 2011; O'Donnell-Megaró et al., 2012), o aumento do teor de $9c$, $11t-18:2$ foi superior ao observado por Rego et al. (2009), provavelmente em decorrência do maior nível de inclusão de óleo de girassol. Isso indica que, além da composição da dieta basal, tanto a quantidade como a fonte e a dose de suplemento lipídico são de extrema importância no que se refere a alterações na concentração de CLA na gordura do leite (SHINGFIELD et al., 2006).

Como mencionado anteriormente, a principal via de síntese do $9c$, $11t-18:2$ é a dessaturação de $11t-18:1$ na glândula mamária (GRIINARI et al., 2000; CORL et al., 2001). Apesar de não ter sido possível diferenciar individualmente os ácidos graxos $10t-18:1$, $11t-18:1$, $12t-18:1$, foi determinado aumento de 87,3% no total de $10+11+12t-18:1$ ($P < 0,0001$) para animais suplementados com óleo de girassol. Estudos anteriores indicaram que o $10t-18:1$, em conjunto com o $10t$, $12c-18:2$, está fortemente atrelado à DGL (PIPEROVA et al., 2000; SHINGFIELD et al., 2006). A ausência de alterações nos parâmetros produção e teor de gordura do leite, paralela ao aumento de $9c$, $11t-18:2$ indicam que o principal responsável pelo maior teor de $10+11+12t-18:1$ observado no presente trabalho tenha sido o $11t-18:1$. Como parte do ácido vacênico pode ser convertido a ácido rumênico no corpo humano (Salminen et al., 1998; Turpeinen et al., 2002), produzir leite rico em $11t-18:1$ também pode representar benefício à saúde dos consumidores.

Suplementar bovinos leiteiros com óleos insaturados aumenta a proporção de AG-*trans* no leite (SHINGFIELD et al., 2006; BU et al., 2007; O'DONNELL-MEGARÓ et al., 2012). A elevada oferta dietética de AGI excede a capacidade de biohidrogenação ruminal

(Dhiman et al., 2000; Shingfield et al., 2006), favorecendo que maior quantidade de intermediários da biohidrogenação ruminal incompleta sejam incorporados à gordura do leite (KALSCHEUR et al., 1997; CRUZ-HERNANDEZ et al., 2007). Os resultados do presente estudo para o teor de 6+7+8+9*t*-18:1 e 16*t*-18:1 corroboram com estes autores.

Para as dietas com óleo de girassol, observou-se aumento estatisticamente significativo ($P=0,009$) da concentração de ácido esteárico (com óleo: 16,32 mg/100 g de AG vs. sem óleo: 12,38 mg/100 g de AG), produto da biohidrogenação ruminal completa do ácido linoleico (BAUMAN; GRIINARI, 2001). Outros autores também relataram maior teor de 18:0 no leite de vacas suplementadas com óleo de girassol em comparação aos grupos controle (sem inclusão de óleo) (CRUZ-HERNANDEZ et al., 2007; REGO et al., 2009). Isso indica que a taxa de hidrogenação completa dos AGI dietéticos, ainda assim, foi alta, concordando com os achados de Rego et al. (2005). Ainda, o efeito da inclusão de óleo de girassol sobre a concentração de 18:0 sugere maior oferta dietética deste AG (MURPHY; COAKLEY; STANTON, 2008).

O óleo de girassol reduziu a concentração dos ácidos graxos de cadeia ímpar e ramificada (AGCIR) - 13:0, 15:0 e 17:0, e 13:0 *anteiso* e 15:0 *iso*. De maneira similar, a concentração de 13:0 *iso* tendeu a ser menor nas dietas com inclusão de óleo ($P=0,06$). AGCIR são importantes componentes da membrana lipídica dos micro-organismos ruminais (Kaneda, 1991; Kim et al., 2005), e o uso suplementos lipídicos não protegidos induz mudanças na microbiota ruminal (Zened et al., 2013) que podem resultar em menor afluxo destes AG (VLAEMINCK et al., 2005; VLAEMINCK et al., 2006; REGO et al., 2009).

O mecanismo através do qual os micro-organismos ruminais regulam sua composição lipídica ainda não foi totalmente elucidado. É provável que consigam incorporar o ácido linoleico e outros AG em sua membrana quando submetidos à ampla oferta dietética de lipídeos. Isso inibe a síntese microbiana dos AGCIR, o que justifica a menor proporção destes em dietas suplementadas com óleo (DEMEYER; DOREAU, 1999). Vlaeminck et al. (2004) relacionaram negativamente o ácido linoleico da dieta com a concentração ruminal de ácidos graxos de cadeia ímpar e ramificada.

Apesar de sua grande importância, o metabolismo microbiano ruminal não consegue explicar completamente a variação na quantidade destes AG na gordura no leite. A glândula mamária também é capaz de sintetizar os ácidos graxos de cadeia linear ímpar e seus isômeros *anteiso*, utilizando propionil-CoA e metilmalonil-CoA como *primers* (CROOM; BAUMAN; DAVIS, 1981). De fato, em estudos mais recentes, têm-se demonstrado teores de AGCIR no

leite superiores ao fluxo duodenal (VLAEMINCK et al., 2006). Segundo Dewhurst et al. (2007) e Glasser et al. (2007), não há relação significativa entre o fluxo duodenal de AGCIR e seu rendimento no leite, sugerindo que sua concentração no leite seja regulada pelo tecido mamário (GLASSER; FERLAY; CHILLIARD, 2008). Os resultados do presente experimento são consistentes com este padrão.

O índice de aterogenicidade, que relaciona os ácidos graxos pró e antiaterogênicos, é considerado um indicador valioso da qualidade nutricional dos alimentos. Os valores encontrados para as dietas com e sem inclusão de óleo de girassol foram, respectivamente, 2,35 e 3,08. Embora não tenha sido observada diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos, houve redução percentual de 23,7% no leite de vacas suplementadas com óleo, o que pode representar benefícios à saúde humana. Por exemplo, Fehily et al. (1994) observaram que um aumento de 0,2 no IA foi associado com aumento de 0,05 mol/L no colesterol plasmático em humanos.

4.3 Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa do leite, determinada através do IP e de TBARS, não foi influenciada pela inclusão de óleo de girassol, selênio e vitamina E na dieta dos animais (tabela 5). Também não houve efeito de interação entre o óleo e os antioxidantes ($P > 0,05$).

Tabela 5 – Índice de peróxidos e valores de TBARS no leite de vacas alimentadas com as dietas experimentais

Óleo		Tratamento		valor de P ¹	
Com	Sem	Com	Sem	O	A
<u>TBARS, absorvância (532 nm)</u>					
0,1156±0,006	0,1154±0,006	0,1145±0,006	0,1165±0,006	0,980	0,834
<u>Índice de peróxidos, meq O₂/kg de óleo</u>					
0,334±0,061	0,381±0,064	0,285±0,064	0,431±0,061	0,600	0,106

¹O = com óleo vs. sem óleo; A = com antioxidantes vs. sem antioxidantes

Diversos estudos anteriores demonstraram que o aumento da concentração de AGI na gordura do leite aumenta sua susceptibilidade à oxidação (Timmons et al., 2001; Al-Mabruk; Beck; Dewhurst, 2004; Havemose et al., 2006; Smet et al., 2009; Rafalowski et al., 2014), com prejuízo à qualidade organoléptica do leite (CHARMLEY; NICHOLSON, 1994). Este

efeito se torna mais evidente à medida que há aumento do grau de insaturação da molécula lipídica (VELASCO; ANDERSEN; SKIBSTED, 2004). De acordo com Zhao et al. (2013), o aumento da cadeia carbônica e do grau de insaturação dos ácidos graxos têm efeito negativo sobre enzimas importantes à detoxificação de radicais livres. Contrariando estas observações, Rafalowski et al. (2014) determinaram que a estabilidade oxidativa do leite é maior mesmo quando a proporção de AGI é elevada. De acordo com estes autores, isso é consequência da alta correlação positiva entre o total de AGI e o teor de α -tocoferol na gordura do leite, cuja importância à estabilidade oxidativa do leite já foi demonstrada (ATWAL; HIDIROGLOU; KRAMER, 1991).

Suplementar bovinos com α -tocoferol (Focant et al., 1998; Al-Mabruk; Beck; Dewhurst, 2004; O'Donnell-Megaró et al., 2012) e selênio (Ceballos et al., 2009; Clausen et al., 2010) comprovadamente aumenta a concentração destes compostos no leite e, em razão da sua capacidade antioxidante, esta estratégia despertou o interesse dos pesquisadores. No presente estudo, a formação de peróxidos foi 33,9% menor para vacas alimentadas com as dietas contendo antioxidantes. Esta diferença não foi estatisticamente significativa ($P=0,106$), provavelmente devido à grande variabilidade de resposta entre os animais, concordando com os achados de Clausen et al., (2010), que também observaram que a taxa de oxidação do leite pode variar consideravelmente de animal para animal.

Os resultados obtidos para a estabilidade oxidativa do leite frente à inclusão de antioxidantes na dieta dos animais ainda são inconsistentes. Alguns autores (St-Laurent et al., 1990; Atwal; Hidirolou; Kramer, 1991; Nicholson; St-Laurent, 1991; Focant et al., 1998; Al-Mabruk; Beck; Dewhurst, 2004) já demonstraram que a suplementação de bovinos leiteiros com vitamina E consegue retardar a oxidação da gordura do leite. No entanto, Lundin e Palmquist (1983) somente observaram efeito positivo da vitamina E sobre a taxa de oxidação do leite após 5 dias de armazenamento. Em contraste, outros pesquisadores não conseguiram retardar a oxidação do leite, mesmo com a inclusão de 8000 UI/d de vitamina E (Charmley; Nicholson, 1994) ou 25 mg de selênio por dia (CLAUSEN et al., 2010). Nicholson et al. (1991) e Charmley, Nicholson e Zee (1993) concluíram que o uso combinado de vitamina E e selênio não foi eficiente em minimizar a ocorrência de sabor oxidado no leite, parâmetro utilizado para avaliar a estabilidade oxidativa da gordura. Segundo Hedegaard et al. (2006) a análise sensorial do leite pode ser utilizada para este fim, visto que apresenta boa correlação com algumas análises químicas específicas, como TBARS mensurado a 532 nm.

Embora a taxa de transferência da vitamina E dietética para o leite seja baixa, cerca de 0,27% (Focant et al., 1998), o aumento de α -tocoferol no leite parece ser suficiente para melhorar a estabilidade oxidativa da gordura (NICHOLSON; ST-LAURENT, 1991). A discrepância entre os resultados pode estar relacionada às doses de α -tocoferol utilizadas para animais suplementados com fontes lipídicas, sendo necessárias doses superiores a 8.000 UI/d (ATWAL; HIDIROGLOU; KRAMER, 1991; FOCANT et al., 1998).

Foi observada diferença estatisticamente significativa ($P < 0,0001$) para TBARS no tempo 96 horas (figura 6A). A elevada produção de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico era esperada neste período, uma vez que o TBARS mensura os produtos secundários da oxidação. Isso mostra que, durante o armazenamento do produto, os antioxidantes são esgotados à medida que os processos oxidativos ocorrem (HEDEGAARD et al., 2006). Apesar de não diferir estatisticamente entre os períodos de análise ($P > 0,05$), a formação dos hidroperóxidos foi, inicialmente, crescente para depois decair (figura 6B). Outros autores já demonstraram o mesmo padrão de acúmulo gradual de hidroperóxidos lipídicos no intervalo entre 0 e 24 horas (GALLAHER et al., 2005; HAVEMOSE et al., 2006).

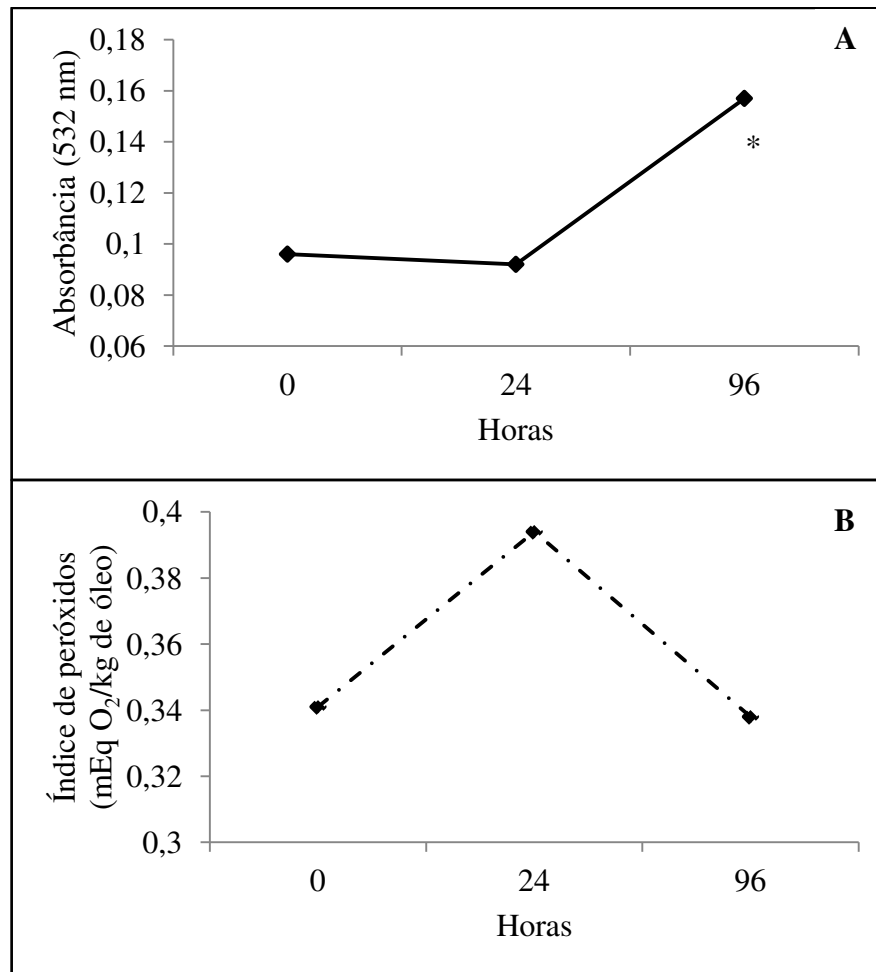


Figura 6. TBARS (A) e índice de peróxidos (B) analisados nos tempos 0, 24 e 96 horas

4.4 Avaliação sensorial

As pontuações do painel de consumidores de leite para odor, sabor e textura na boca além de não diferirem entre os tratamentos (tabela 6), foram comparáveis ao controle positivo ($P > 0,05$). Isso indica que, para estes atributos, o leite de vacas suplementadas com óleo, antioxidantes ou óleo e antioxidantes era aceitável aos consumidores. Na escala hedônica, as notas atribuídas ao odor (5,8 a 6,6), sabor (5,8 a 6,5) e textura na boca (5,9 a 6,7) sugerem que o leite de todos os tratamentos, para estas características, foi ligeiramente apreciado.

Tabela 6 - Pontuação da análise sensorial em painel aberto¹ sobre a aceitação do leite pelos consumidores

Características	Controle positivo ³	Tratamento ²					P
		C	O	SE	OSE	DP ⁴	
Cor	8,1 ^a	6,5 ^{bc}	6,5 ^{bc}	5,7 ^c	7,0 ^b	1,916	<0,01
Odor	6,6	6,5	6,4	5,8	6,4	1,570	0,061
Sabor	6,3	6,3	6,5	5,8	6,3	1,907	0,324
Textura na boca	6,7	6,5	6,7	5,9	6,5	1,878	0,102

^{a,b,c}As médias com diferentes letras sobrescritas dentro da mesma linha diferem com o valor de P exibido na última coluna.

¹Escala de nove pontos, onde 9 = adorei, 5 = não gostei/não desgostei, e 1 = detestei.

²Animais alimentados com dieta controle (C); dieta com inclusão de 4% de óleo de girassol em relação à MS da dieta total (O); dieta com inclusão de 3.000 UI de vitamina E/kg de MS + 3,5 mg de selênio/kg de MS (SE); ou dieta com inclusão de 4% de óleo de girassol em relação à MS da dieta total + 3.000 UI de vitamina E/kg de MS + 3,5 mg de selênio/kg de MS (OSE).

³Leite integral pasteurizado tipo A adquirido em supermercado foi utilizado como controle positivo.

⁴Desvio padrão.

É possível observar que em relação à análise da aceitação do atributo cor, o leite adquirido em supermercado foi o que obteve maior nota (8,1), que se refere na escala a “gostei muito”, diferindo significativamente ($P < 0,01$) das outras amostras. O resultado indica que este leite apresentou maior destaque na propriedade cor. Também é possível notar que o leite do tratamento OSE apresentou maior pontuação do que o leite oriundo de vacas alimentadas com dietas contendo inclusão somente de antioxidantes (7,0 vs. 5,7), apresentando diferença estatisticamente significativa ($P < 0,01$). Exceto quando comparados ao controle positivo, o leite dos tratamentos C e O não foram diferentes dos outros tratamentos ($P > 0,05$).

A cor característica do leite (branco-amarelada opaca) é resultado da presença de pigmentos naturais - carotenóides, proteínas e riboflavinas (Nozière et al., 2006) e da dispersão da luz pelos glóbulos de gordura e pelas partículas coloidais de caseína e de fosfato de cálcio, e pode ser influenciada pelo tipo de processamento a que o leite é submetido (OWENS; BREWER; RANKIN, 2001). O tipo de processamento a que o leite é submetido pode influenciar a cor do produto (Pereda et al., 2007), sobretudo a sua brancura (AMADOR-ESPEJO et al., 2014). A aparência visual dos alimentos é a característica através da qual os consumidores avaliam a qualidade do produto (CASSENS; FAUSTMAN; JIMENEZ-COLMENERO, 1988). Rudan et al. (1998) e Hayes e Kelly (2003) observaram que o leite submetido à homogeneização apresentava-se mais branco.comparado ao controle, o que pode

estar relacionado ao maior número de glóbulos de gordura, favorecendo a dispersão da luz de forma mais eficiente (WALSTRA; GEURTS; WOUTERS, 2006).

A homogeneização do leite é um processo através do qual o tamanho dos glóbulos de gordura é reduzido (Thiebaud et al., 2003; Pereda et al., 2007), enquanto que o efeito contrário é observado sobre a área de superfície (LEE; SHERBON, 2002). No presente estudo, as amostras de leite dos diferentes tratamentos dietéticos não foram homogeneizadas antes ou após o processamento térmico, podendo explicar suas notas inferiores (C: 6,5; O: 6,5; SE: 5,7; OSE: 7,0 vs. 8,1) no que se refere à cor quando comparadas ao controle positivo.

O teste de diferença do controle permitiu verificar se as amostras de leite dos tratamentos dietéticos diferiam significativamente da amostra padrão (leite comprado em supermercado), à qual não foi conferida nota, com relação ao sabor e ao odor. Os resultados demonstraram não haver diferença estatisticamente significativa entre as amostras e o padrão conhecido (figura 7), as quais foram classificadas, de maneira geral, como “pouco diferente”. Estes resultados concordam com as observações de Jones et al. (2005) e Khanal et al., (2005). Segundo estes autores, de maneira geral, produtos lácteos enriquecidos ou não com CLA são considerados semelhantes pelos consumidores.

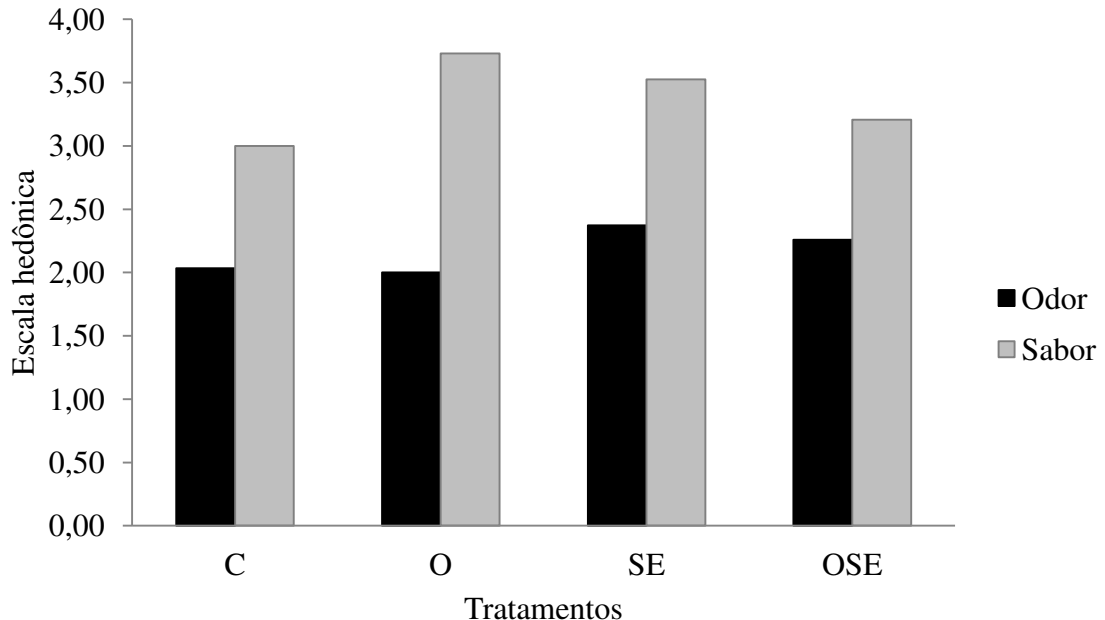


Figura 7. Médias atribuídas às amostras de leite dos diferentes tratamentos dietéticos (escala hedônica de valores: 1 = não é diferente; 9 = extremamente diferente). $P > 0,05$.

5. CONCLUSÃO

Vacas alimentadas com 4% de óleo de girassol produziram leite com perfil de ácidos graxos modificado, contendo maior teor de ácido linoleico conjugado, sem alterar o teor de gordura do leite e sem aumentar a susceptibilidade do leite à oxidação. A inclusão dietética de Se e vitamina E não influenciou a estabilidade oxidativa do leite. Exceto pela cor, as características sensoriais do leite de vacas suplementadas com óleo de girassol, Se e vitamina E não foram alteradas e apresentaram semelhança ao leite comercial.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUGHAZALEH, A.A. et al. Feeding fish meal and extruded soybeans enhances the conjugated linoleic acid (CLA) content of milk. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.3, p.624-631, 2002.
- ABUGHAZALEH, A.A.; FELTON, D.O.; IBRAHIM, S.A. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil and sunflower oil supplementation to dairy cows managed under two feeding systems. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.10, p.4763-4769, 2007.
- ABUGHAZALEH, A.A.; HOLMES, L.D. Diet supplementation with fish oil and sunflower oil to increase conjugated linoleic acid levels in milk fat of partially grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.6, p.2897-2904, 2007.
- ADEGOKE, G.O. et al. Antioxidants and lipid oxidation in food - a critical appraisal. **Journal of Food Science and Technology**, v.35, n.4, p.283-298, 1998.
- AL-MABRUK, R.M.; BECK, N.F.; DEWHURST, R.J. Effects of silage species and supplemental vitamin E on the oxidative stability of milk. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.2, p.406-412, 2004.
- AMADOR-ESPEJO, G.G. et al. Effect of moderate inlet temperatures in ultra-high-pressure homogenization treatments on physicochemical and sensory characteristics of milk. **Journal of Dairy Science**, v.97, n.2, p.659-671, 2014.
- AMMERMAN, C.B.; MILLER, S.M. Selenium in ruminant nutrition: a review. **Journal of Dairy Science**, v.58, n.10, p.1561-1577, 1975.
- ANTUNES, A.J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino**. Barueri, SP: Manole, 2003.
- ARCURI, P.B.; LOPES, F.C.F.; CARNEIRO, J.C. Microbiologia do rúmen. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G de. **Nutrição dos ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p.111-140.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis**. Ed. 17. Gaithersburg, Maryland: W.Horwitz, 2000.
- ATWAL, A.S.; HIDIROGLOU, M.; KRAMER, J.K.G. Effects of feeding Protec® and α -tocopherol on fatty acid composition and oxidative stability of cow's milk. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.1, p.140-145, 1991.

- AYALA, A.; MUÑOZ, M.F.; ARGÜELLES, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2014.
- BAILEY, A.E. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products** Ed. 5, New York: John Wiley & Sons, 1996.
- BALDI, A. Vitamin E in dairy cows. **Livestock Production Science**, v.98, n.1-2, p.117-122, 2005.
- BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v.29, n.1, p.113-123, 2006.
- BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v.70, n.1-2, p.15-29, 2001.
- BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v.23, p.203-227, 2003.
- BAUMAN, D.E.; CORL, B.A.; PETERSON, D.G. The biology of conjugated linoleic acid in ruminants. In: SEBEDIO, J.; CHRISTIE, W.W.; ADOLF, R. **Advances in Conjugated Linoleic Acid Research**. Champaign: AOCS Press, 2003. p: 146-173.
- BAUMGARD, L.H. et al. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. **American Journal of Physiology**, v.278, n.1, p.179-184, 2000.
- BAUMGARD, L.H.; SANGSTER, J.K.; BAUMAN, D.E. Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing supplemental amounts of *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid (CLA). **The Journal of Nutrition**, v.131, n.6, p.1764-1769, 2001.
- BAUMGARD, L.H. et al. *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.9, p.2155-2163, 2002.
- BELITZ, H.D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. Ed. 3. Berlin: Springer, 2004.
- BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v.12, n.2, p.123-130, 1999.
- BJØRNEBOE, A.; BJØRNEBOE, G.E.; DREVON, C.A. Absorption, transport and distribution of vitamin E. **The Journal of Nutrition**, v.120, n.3, p.233-242, 1990.
- BOLAND, M.; MACGIBBON, A.; HILL, J. Designer milks for the new millennium. **Livestock Production Science**, v.72, n.1-2, p.99-109, 2001.
- BRASIL. Artigo nº 476, de 29 de março de 1952. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal** (RIISPOA), Brasília, 1952.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do Agronegócio: Brasil 2013/2014 a 2023/2024 - projeções de longo prazo**. Brasília, MAPA/ACS, 2014. 100 p.

BRETILLON, L. et al. Effects of conjugated linoleic acid isomers on the hepatic microsomal desaturation activities *in vitro*. **Lipids**, v.34, n.9, p.965-969, 1999.

BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; TRABER, M.G. Vitamin E: function and metabolism. **FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v.13, n.10, p.1145-1155, 1999.

BU, D.P. et al. Effectiveness of oils rich in linoleic and linolenic acids to enhance conjugated linoleic acid in milk from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.2, p.998-1007, 2007.

CALAMARI, L.; PETRERA, F.; BERTIN, G. Effects of either sodium selenite or Se yeast (Sc CNCM I-3060) supplementation on selenium status and milk characteristics in dairy cows. **Livestock Science**, v.128, n.1, p.154-165, 2010.

CARPENTER, R.P.; LYON, D.H.; HASDELL, T.A. **Guidelines for sensory analysis in food product development and quality control**. Ed. 2. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, Inc., 2000.

CASSENS, R.G.; FAUSTMAN, C.; JIMENEZ-COLMENERO, F. Modern development in research on color of meat. In: KROL, B.; VAN ROON, P.S.; HOUBEN, J.H. **Trends in Modern Meat Technology 2**. Wageningen, The Netherlands: Pudoc, 1988.

CEBALLOS, A. et al. Meta-analysis of the effect of oral selenium supplementation on milk selenium concentration in cattle. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.1, p.324-342, 2009.

CHAPMAN, K.W.; BOOR, K.J. Acceptance of 2% ultra-pasteurized milk by consumers, 6 to 11 years old. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.4, p.951-954, 2001.

CHARMLEY, E; NICHOLSON, J.W.G; ZEE, J.A. Effect of supplemental vitamin E and selenium in the diet on vitamin E and selenium levels and control of oxidized flavor in milk from Holstein cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v.73, n.2, p.453-457, 1993.

CHARMLEY, E; NICHOLSON, J.W.G. Influence of dietary fat source on oxidative stability and fatty acid composition of milk from cows receiving a low or high level of dietary vitamin E. **Canadian Journal of Animal Science**, v.74, n.4, p.657-664, 1994.

CHILLIARD, Y. et al. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.109, n.8, p.828-855, 2007.

CHOI, Y. et al. The *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid downregulates stearoyl-CoA desaturase 1 gene expression in 3T3-L1 adipocytes. **The Journal of Nutrition**, v.130, n.8, p.1920-1924, 2000.

CHRISTIE, W.W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters. **Journal of Lipid Research**, v.23, n.7, p.1072-1075, 1982.

CLAUSEN, M.R. et al. Oxidative stability of bovine milk determined by individual variability in herd irrespective of selenium status. **International Dairy Journal**, v.20, n.8, p.507-513, 2010.

COLLOMB, M. et al. Conjugated linoleic acids in milk fat: variation and physiological effects. **International Dairy Journal**, v.16, n.11, p. 1347-1361, 2006.

COMBS JR, G.F. Selenium in global food systems. **British Journal of Nutrition**, v.85, n.5, p.517-547, 2001.

CORL, B.A. et al. The role of Δ^9 -desaturase in the production of *cis*-9, *trans*-11 CLA. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.12, n.11, p.622-630, 2001.

CROISSANT, A.E.; WASHBURN, S.P.; DEAN, L.L.; DRAKE, M.A. Chemical properties and consumer perception of fluid milk from conventional and pasture-based production systems. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.11, p.4942-4953, 2007.

CROOM JR, W.J.; BAUMAN, D.E.; DAVIS, C.L. Methylmalonic acid in low-fat milk syndrome. **Journal of Dairy Science**, v.64, n.4, p.649-654, 1981.

CRUZ-HERNANDEZ, C. et al. Evaluating the conjugates linoleic acid and *trans* 18:1 isomers in milk fat of dairy cows fed increasing amounts of sunflower oil and a constant level of fish oil. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.8, p.3786-3801, 2007.

da SILVA, P.H.F. Leite: aspectos de composição e propriedades. **Química Nova na Escola**, n.6, p.3-5, 1997.

de VETH, M.J. et al. Effect of CLA on milk fat synthesis in dairy cows: comparison of inhibition by methyl esters and free fatty acids, and relationships among studies. **Lipids**, v.39, n.4, p.365-372, 2004.

DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.58, p.593-607, 1999.

DEWHURST, R.J. et al. Apparent recovery of duodenal odd- and branched-chain fatty acids in milk of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.4, p.1775-1780, 2007.

DHIMAN, T.R. et al. Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.2, p.412-419, 1999.

DHIMAN, T.R. et al. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.5, p.1016-1027, 2000.

DIETARY GUIDELINES FOR AMERICANS. U.S. Department of Agriculture and U.S. Department of Health and Human Services. 7th Edition, Washington, DC: U.S. Government Printing Office, Dezembro, 2010.

DOREAU, M.; CHILLIARD, Y.; RULQUIN, H.; DEMEYER, D.I. Manipulation of milk fat in dairy cows. In: GARNSWORTHY, P.C.; WISEMAN, J. **Recent Advances in Animal Nutrition**. Nottingham: Nottingham University Press, 1999. p. 81-109.

DOVE, C.R.; EWAN, R.C., 1991. Effect of trace minerals on the stability of vitamin E in swine grower diets. **Journal of Animal Science**, v.69, n.5, p.1994-2000, 1991.

FANG, Y.Z.; YANG, S.; WU, G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. **Nutrition**, v.18, n. 10, p.872-879, 2002.

FEHILY, A.M. et al. Dietary indices of atherogenicity and thrombogenicity and ischaemic heart disease risk: the Caerphilly Prospective Study. **British Journal of Nutrition**, v.71, n.2, p.249-257, 1994.

- FENG, S.; LOCK, A.L.; GARNSWORTHY, P.C. Technical note: a rapid lipid separation method for determining fatty acid composition of milk. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.11, p.3785-3788, 2004.
- FLORA, S.J.S. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v.2, n.4, p.191-206, 2009.
- FLOWERS, G.; IBRAHIM, S.A.; ABUGHAZALEH, A.A. Milk fatty acid composition of grazing dairy cows when supplemented with linseed oil. **Journal of Dairy Science**, v.91, n.2, p.722-730, 2008.
- FOCANT, M. et al. The effect of vitamin E supplementation of cow diets containing rapeseed and linseed on the prevention of milk fat oxidation. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.4, p.1095-1101, 1998.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Milk and dairy products in human nutrition**, 2013. 376 p.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Food and nutrition in numbers**, 2014. 245 p.
- FRANKEL, E.N. Review. Recent advances in lipid oxidation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.54, n.4, p.495-511, 1991.
- GABOS, M.B.; ALLEONI, L.R.F.; ABREU, C.A. Background levels of selenium in some selected Brazilian tropical soils. **Journal of Geochemical Exploration**, v.145, p.35-39, 2014.
- GALLAHER, J.J. et al. Effect of composition and antioxidants on the oxidative stability of fluid milk supplemented with an algae oil emulsion. **International Dairy Journal**, v.15, n.4, p.333-341, 2005.
- GANDY, A.L.; SCHILLING, M.W.; COGGINS, P.C.; WHITE, C.H.; YOON, Y.; KAMADIA, V.V. The effect of pasteurization temperature on consumer acceptability, sensory characteristics, volatile compound composition, and shelf-life of fluid milk. **Journal of Dairy Science**, v.91, n.5, p.1769-1777, 2008.
- GIERUS, M.; SCHWARZ, F.J.; KIRCHGESSNER, M. Selenium supplementation and selenium status of dairy cows fed diets based on grass, grass silage or maize silage. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.86, n.3-4, p.74-82, 2002.
- GIERUS, M. Fontes orgânicas e inorgânicas de selênio na nutrição de vacas leiteiras: digestão, absorção, metabolismo e exigências. **Ciência Rural**, v.37, n.4, p.1212-1220, 2007.
- GLASSER, F. et al. Milk fatty acids: mammary synthesis could limit transfer from duodenum in cows. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.109, n.8, p.817-827, 2007.
- GLASSER, F.; FERLAY, A.; CHILLIARD, Y. Oilseed lipid supplements and fatty acid composition of cow milk: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v.91, n.12, p.4687-4703, 2008.
- GONG, J. et al. Effect of dietary organic selenium on milk selenium concentration and antioxidant and immune status in midlactation dairy cows. **Livestock Science**, v.170, p.84-90, 2014.

GRAY, J.I. Measurement of lipid oxidation: A review. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.55, n.6, p.539-546, 1978.

GUINAZI, M. et al. Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. **Química Nova**, v.32, n.8, p.2098-2103, 2009.

GRIINARI, J.M.; BAUMAN, D.E. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: Yurawecz, M.P.; Mossoba, M.M.; KRAMER, J.K.G.; PARIZA, M.W.; NELSON, G. **Advances in Conjugated Linoleic Acid Research**. Champaign: Amer Oil Chemists Society, 1999. p.180-200.

GRIINARI, J.M. et al. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Delta(9)-desaturase. **The Journal of Nutrition**, v.130, n.9, p.2285-2291, 2000.

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

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radical in Biology and Medicine**. Ed. 2. Oxford: University Press, 1989.

HARA, A.; RADIN, N.S. Lipid extraction of tissues with low-toxicity solvent. **Analytical Biochemistry**, v.90, n.1, p.420-426, 1978.

HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P.N. **The Rumen Microbial Ecosystem**. London: Elsevier Applied Science Publishers, 1988. p.285-322.

HAVEMOSE, M.S. et al. Oxidative stability of milk influenced by fatty acids, antioxidants, and copper derived from feed. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.6, p.1970-1980, 2006.

HAYES, M.G., KELLY, A.L. High pressure homogenisation of raw whole bovine milk (a) effects on fat globule size and other properties. **The Journal Dairy Research**, v.70, n.3, p.297-305, 2003.

HE, M.; ARMENTANO, L.E. Effect of fatty acid profile in vegetable oils and antioxidant supplementation on dairy cattle performance and milk fat depression. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.5, p.2481-2491, 2011.

HEDEGAARD, R.V. et al. Comparison of descriptive sensory analysis and chemical analysis for oxidative changes in milk. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.2, p.495-504, 2006.

HEFNAWY, A.E.G.; TÓRTORA-PÉREZ, J.L. The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health. **Small Ruminant Research**, v. 89, n.2-3, p.185-192, 2010.

HILL, J.O. 30 years of research in thermal analysis and calorimetry. **Journal of Thermal Analysis**, v.42, n.2-3, p.607-621, 1994.

HUTH, P.J.; DIRIENZO, D.B.; MILLER, G.D. Major scientific advances with dairy foods in nutrition and health. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.4, p.1207-1221, 2006.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Censo Agropecuário**, 2006. 777 p.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Tabulações especiais do censo Agropecuário 2006**, 2011

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Produção da pecuária municipal**, 2013. v.41. 108 p.

IP, C. et al. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. **Cancer Research**, v.51, n.22, p.6118-6124, 1991.

JADHAV S.J.; NIMBALKAR S.S.; KULKARNI A.D.; MADHAVI D.L. Lipid oxidation in biological and food systems. In: MADHAVI D.L.; DESHPANDE S.S.; SALUNKHE D.K. **Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives**. New York: Marcel Dekker Inc., 1996. p. 5-63.

JENSEN, R.G.; FERRIS, A.M.; LAMMI-KEEFE, C.J. The composition of milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.9, p.3228-3243, 1991.

JENSEN, R.G. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.2, p.295-350, 2002.

JENKINS, T.C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.12, p.3851-3863, 1993.

JENKINS, T.C.; HAVARTINE, K.J. Lipid feeding and milk fat depression. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v.30, n.3, p.623-642, 2014.

JONES, E.L. et al. Chemical, physical, and sensory properties of dairy products enriched with conjugated linoleic acid. **Journal of Dairy Science**, v.88, n.8, p.2923-2937, 2005.

JUNG, M.J.; HEO, S.; WANG, M.H. Free radical scavenging and total phenolic contents from methanolic extracts of *Ulmus davidiana*. **Food Chemistry**, v.108, n.2, p.482-487, 2008.

KALSCHEUR, K.F. et al. Effect of fat source on duodenal flow of *trans*-C_{18:1} fatty acids and milk fat production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.9, p.2115-2126, 1997.

KANEDA, T. Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance. **Microbiological Reviews**, v.55, n.2, p.288-302, 1991.

KAYLEGIAN, K.E.; LINDSAY, R.C. **Handbook of Milk fat Fractionation Technology and Application**. Champaign: AOCS Press, 1995.

KELLY, M.L. et al. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. **The Journal of Nutrition**, v.128, n.5, p.881-885, 1998.

KEPLER, C.R. et al. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. **The Journal of Biological Chemistry**, v.241, p.1350-1354, 1966.

KHANAL, R.C.; OLSON, K.C. Factors affecting conjugated linoleic acid (CLA) content in milk, meat, and egg: a review. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.3, n.2, p.82-98, 2004.

KHANAL, R.C. et al. Consumer acceptability of conjugated linoleic acid-enriched milk and cheddar cheese from cows grazing on pasture. **Journal of Dairy Science**, v.88, n.5, p.1837-1847, 2005.

KIM, E.J. et al. Fatty acid profiles associated with microbial colonization of freshly ingested grass and rumen biohydrogenation. **Journal of Dairy Science**, v.88, n.9, p.3220-3230, 2005.

- KIM, M.K.; LOPETCHARAT, K.; DRAKE, M.A. Influence of packaging information on consumer liking of chocolate milk. *Journal of Dairy Science*, v.96, n.8, p.4843-4856, 2013.
- KING, R.L. Oxidation of milk fat globule membrane material. I - Thiobarbituric acid reaction as a measure of oxidized flavor in milk and model systems. *Journal of Dairy Science*, v.45, n.10, p.1165-1171, 1962.
- KNOWLES, S.O. et al. Reasons and means for manipulating the micronutrient composition of milk from grazing dairy cattle. *Animal Feed Science and Technology*, v.131, n.3-4, p.154-167, 2006.
- KOBA, K.; YANAGITA, T. Health benefits of conjugated linoleic acid (CLA). *Obesity Research & Clinical Practice*, v.8, n.6, p.525-532, 2014.
- KORYCKA-DAHL, M.; RICHARDSON, T. Initiation of oxidative changes in foods. *Journal of Dairy Science*, v.63, n.7, p.1181-1198, 1980.
- KRINSKY, N.I. Mechanism of action of biological antioxidants. *Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine*, v.200, n.2, p.248-254, 1992.
- KUBOW, S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. *Free Radical Biology & Medicine*, v.12, n.1, p.63-81, 1992.
- LEE, S.J.; SHERBON, J.W. Chemical changes in bovine milk fat globule membrane caused by heat treatment and homogenization of whole milk. *Journal of Dairy Research*, v.69, n.4, p.555-567, 2002.
- LEITE BRASIL. Disponível em: www.leitebrasil.org.br. Acesso em 12 de janeiro de 2010.
- LINDMARK-MANSSON, H. Fatty acids in bovine milk fat. *Food & Nutrition Research*, v.52, 2008. Report.
- LOOR, J.J.; HERBEIN, J.H. Reduced fatty acid synthesis and desaturation due to exogenous *trans*¹⁰, *cis*¹²-CLA in cows fed oleic or linoleic oil. *Journal of Dairy Science*, v.86, n.4, p.1354-1369, 2003.
- LOOR, J.J. et al. Short communication: Diurnal profiles of conjugated linoleic acids and *trans* fatty acids in ruminal fluid from cows fed a high concentrate diet supplemented with fish oil, linseed oil, or sunflower oil. *Journal of Dairy Science*, v.87, n.8, p.2468-2471, 2004.
- LOOR, J.J. et al. High-concentrate diets and polyunsaturated oils alter *trans* and conjugated isomers in bovine rumen, blood, and milk. *Journal of Dairy Science*, v.88, n.11, p.3986-3999, 2005.
- LUNDIN, P.K.; PALMQUIST, D.L. Vitamin E supplementation of high fat diets for dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.66, n.9, p.1909-1916, 1983.
- LUNSIN, R.; WANAPAT, M.; ROWLINSON, P. Effect of cassava hay and rice bran oil supplementation on rumen fermentation, milk yield and milk composition in lactating dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, v.25, n.10, p.1364-1373, 2012.
- MANSBRIDGE, R.J.; BLAKE, J.S. Nutritional factors affecting the fatty acid composition of bovine milk. *British Journal of Nutrition*, v.78, Suppl 1:S37-47, 1997.

- MAPATO, C.; WANAPAT, M.; CHERDTHONG, A. Effect of urea treatment of straw and dietary level of vegetable oil on lactating dairy cows. **Tropical Animal Health and Production**, v.42, n.8, p.1635-1642, 2010.
- MARTINS, P.C.; GUILHOTO, J.J.M. Leite e derivados e a geração de emprego, renda e ICMS no contexto da economia brasileira. In: GOMES, A.T.; LEITE, J.L.B.; CARNEIRO, A.V. **O Agronegócio do Leite no Brasil**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001.
- MAXIN, G. et al. Combined effects of *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid, propionate, and acetate on milk fat yield and composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.4, p.2051-2059, 2011.
- McDOWELL, L.R. et al. Vitamin E supplementation for the ruminant. **Animal Feed Science and Technology**, v.60, n.3-4, p.273-296, 1996.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. Ed. 3. Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc., 1999.
- MELE, M.C. et al. Metabolism of c9,t11-conjugated linoleic acid (CLA) in humans. **Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids (PLEFA)**, v.89, n.2-3, p.115-119, 2013.
- MICINSKI, J. et al. The effects of bovine milk fat on human health. **Polish Annals of Medicine**, v.19, n.2, p.170-175, 2012.
- MOLLET, B.; ROWLAND, I. Functional foods: at the frontier between food and pharma. **Current Opinion in Biotechnology**, v.13, n.5, p.483-485, 2002.
- MURPHY, J.J.; COAKLEY, M.; STANTON, C. Supplementation of dairy cows with fish oil containing supplement and sunflower oil to increase the CLA content of milk produced at pasture. **Livestock Science**, v.116, n.1-3, p.332-337, 2008.
- NAWAR, W.W. Lipids. In: FENNEMA, O.R. **Food chemistry**. Ed. 2. New York: Marcel Dekker, 1985. p.176.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of dairy cattle**. Ed. 7. National Academy Press, Washinton, D.C., 2001.
- NEY, D.M. Potential for enhancing the nutritional properties of milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.11, p.4002-4012, 1991.
- NICHOLSON, J.W.G.; ST-LAURENT, A.M. Effect of forage type and supplemental dietary vitamin E on milk oxidative stability. **Canadian Journal of Animal Science**, v.71, n.4, p.1181-1186, 1991.
- NICHOLSON, J.W.G. et al. The effect of feeding organically bound selenium and alpha-tocopherol to dairy cows on susceptibility of milk to oxidation. **Canadian Journal of Animal Science**, v.71, n.1, p.135-143, 1991.
- NÖTHLINGS, U. et al. Flavonols and pancreatic cancer risk: the multiethnic cohort study. **American Journal of Epidemiology**, v.166, n.8, p.924-931, 2007.
- NORUM, K.R. Dietary fat and blood lipids. **Nutrition Reviews**, v.50, n.4, p.30-37, 1992.

- NOZIÈRE, P. et al. Carotenoids for ruminants: from forages to dairy products. **Animal Feed Science and Technology**, v.131, n.3-4, p.418-450, 2006.
- NUNES, J.C.; TORRES, A.G. Fatty acid and CLA composition of Brazilian dairy products, and contribution to daily intake of CLA. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.23, n.8, p.782-789, 2010.
- O'DONNELL-MEGARO, A.M. et al. Effect of linoleic acid and dietary vitamin E supplementation on sustained conjugated linoleic acid production in milk fat from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.95, n.12, p.7299-7307, 2012.
- OLIVEIRA, M.A.B. **Análise Sensorial de Alimentos**. São Paulo: Editora Noryam, 2009.
- ONETTI, S.G. et al. Effect of type and level of dietary fat on rumen fermentation and performance of dairy cows fed corn silage-based diets. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.12, p.2751-2759, 2001.
- OWENS; S.L.; BREWER, J.L., RANKIN, S.A. Influence of bacterial cell population and pH on the color of nonfat milk. **Food Science and Technology-LEB**, v.34, n.5, p.329-333, 2001.
- PAL, D.; SACHDEVA, S.; SINGH, S. Methods for determination of sensory quality of foods: a critical appraisal. **Journal of Food Science**, v.32, n.5, p.357-367, 1985.
- PALMQUIST, D.L.; BEAULIEU, A.D.; BARBANO, D.M. Feed and animal factors influencing milk fat composition. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.6, p.1753-1771, 1993.
- PARK, Y. et al. Conjugated linoleic acid and calcium co-supplementation improves bone health in ovariectomised mice. **Food Chemistry**, v.140, n.1-2, p.280-288, 2013.
- PARODI, P.W. Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agents. **The Journal of Nutrition**, v.127, n.6, p.1055-1060, 1997.
- PARODI, P.W. Milk fat in human nutrition. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v.59, n.1, p.3-59, 2004.
- PATCHING, S.G.; GARDINER, P.H.E. Recent developments in selenium metabolism and chemical speciation: a review. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.13, n.4, p.193-214, 1999.
- PEREDA, J. et al. Effects of ultra-high pressure homogenization on microbial and physicochemical shelf life of milk. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.3, p.1081-1093, 2007.
- PERFIELD II, J.W. et al. *Trans*-10, *trans*-12 conjugated linoleic acid does not affect milk fat yield but reduces Δ^9 -desaturase index in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.7, p.2559-2566, 2006.
- PIPEROVA, L.S. et al. Mammary lipogenic enzyme activity, *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. **The Journal of Nutrition**, v.130, n.10, p.2568-2574, 2000.
- POLAN, C.E.; MCNEILL, J.J.; TOVE, S.B. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by rumen bacteria. **Journal of Bacteriology**, v.88, p.1056-1064, 1964.

- RAFALOWSKI, R. et al. Oxidative stability of milk fat in respect to its chemical composition. **International Dairy Journal**, v.36, n.1, p.82-87, 2014.
- RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.29, n.4, p.755-760, 2006.
- REGO, O.A. et al. The effects of supplementation with sunflower and soybean oil on the fatty acid profile of milk fat from grazing dairy cows. **Animal Research**, v.54, n.1, p.17-24, 2005.
- REGO, O.A. et al. Rumen biohydrogenation-derived fatty acids in milk fat from grazing dairy cows supplemented with rapeseed, sunflower, or linseed oils. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.9, p.4530-4540, 2009.
- REVENEAU, C. et al. Interaction of unsaturated fat or coconut oil with monensin in lactating dairy cows fed 12 times daily. II. Fatty acid flow to the omasum and milk fatty acid profile. **Journal of Dairy Science**, v.95, n.4, p.2061-2069, 2012.
- ROTRUCK, J.T. et al. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. **Science**, v.179, n.4073, p.588-590, 1973.
- RUDAN, M.A.; BARBANO; D.M.; GUO; M.R.; KINDSTEDT, P.S. Effect of the modification of fat particle size by homogenization on composition, proteolysis, functionality, and appearance of reduced fat mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.8, p.2065-2076, 1998.
- SALMINEN, I. et al. Dietary *trans* fatty acids increase conjugated linoleic acid levels in human serum. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.9, n.2, p.93-98, 1998.
- SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J. B.; SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. **Livestock Production Science**, v.77, n.2-3, p.187-194, 2002.
- SCHWARZ, K.; FOLTZ, C.M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary liver degeneration. **Journal of the American Chemical Society**, v.79, n.12, p.3292-3293, 1957.
- SCHWARZ, K. et al. Prevention of exudative diathesis in chicks by factor 3 and selenium. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.95, n.4, p.621-625, 1957.
- SEN, C.K.; KHANNA, S.; ROY, S. Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols. **Life Sciences**, v.78, n.18, p.2088-2098, 2006.
- SEVANIAN, A.; HOCHSTEIN, P. Mechanisms and consequences of lipid peroxidation in biological systems. **Annual Reviews of Nutrition**, v.5, p.365-390, 1985.
- SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos proteicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Editora-Livraria Varela, 1996.
- SHANTA, N.C.; DECKER, E.A. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric method for determination of peroxide values of food lipid. **Journal of AOAC International**, v.77, n.2, p.421-424, 1994.

SHINGFIELD, K.J. et al. Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.2, p.714-732, 2006.

SHINGFIELD, K.J. et al. Role of *trans* fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. **Animal**, v.4, n.7, p.1140-1166, 2010.

SIDHU, G.S.; BROWN, M.A.; JOHNSON, A.R. Autoxidation in milk rich in linoleic acid I. An objective method for measuring autoxidation and evaluating antioxidant. **Journal of Dairy Research**, v.42, n.1, p.185-195, 1975.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.62, n.6, p.1315-1321, 1995.

SKLAN, D. et al. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.9, p.2463-2472, 1992.

SMET, K. et al. Oxidative stability of UHT milk as influenced by fatty acid composition and packaging. **International Dairy Journal**, v.19, n.6-7, p.372-379, 2009.

ST. ANGELO, A.J. Lipid oxidation in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.36, n.3, p.175-224, 1996.

ST.-LAURENT, A.M.; HIDIROGLOU, M.; SNOODON, M.; NICHOLSON, J.W. Effect of α -tocopherol supplementation to dairy cows on milk and plasma α -tocopherol concentrations and on spontaneous oxidized flavor in milk. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 70, n.2, p.561-570, 1990.

STOFFEL, C.M.; CRUMP, P.M.; ARMENTANTO, L.E. Effect of dietary fatty acid supplements, varying in fatty acid composition, on milk fat secretion in dairy cattle fed diets supplemented to less than 3% total fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v.98, n.1, p.431-442, 2015.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory Evaluation Practices**. Ed 3. San Diego: Elsevier Academic Press, 2004.

TAKACHI, R. et al. Fruit and vegetable intake and risk of total cancer and cardiovascular disease: Japan Public Health Center-Based Prospective Study. **American Journal of Epidemiology**, v.167, n.1, p.59-70, 2008.

TAPIERO, H.; TOWNSEND, D.M.; TEW, K.D. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.57, n.3-4, p.134-144, 2003.

THIEBAUD, M. et al. High-pressure homogenisation of raw bovine milk. Effects on fat globule size distribution and microbial inactivation. **International Dairy Journal**, v.13, n.6, p.427-439, 2003.

TIMMONS, J.S. et al. Relationships among dietary roasted soybeans, milk components, and spontaneous oxidized flavor of milk. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.11, p.2440-2449, 2001.

TURPEINEN, A.M. et al. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, n.3, p.504-510, 2002.

ULBRICHT, T.L.V.; SOUTHGATE, D.A.T. Coronary heart disease: seven dietary factors. **Lancet**, v.338, n.8773, p.985-992, 1991.

United States Department of Agriculture. **Fluid milk - cow numbers: summary for selected countries**. Disponível em:

<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/psdReport.aspx?hidReportRetrievalName=Fluid+Milk+-+Cow+Numbers%3a+Summary+For+Selected+Countries++++++++&hidReportRetrievalID=1274&hidReportRetrievalTemplateID=7>. Acesso em 17 de dezembro de 2014.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583–3597, 1991.

VELASCO, J.; ANDERSEN, M.G.; SKIBSTED, L.H. Evaluation of oxidative stability of vegetable oils by monitoring tendency to radical formation. A comparison of electron spin resonance spectroscopy with the Rancimat method and differential scanning calorimetry. **Food Chemistry**, v.85, n.4, p.623-632, 2004.

VIANA, G.; FERRAS, R.P.R. A cadeia produtiva do leite: um estudo sobre a organização da cadeia e sua importância para o desenvolvimento regional. **Revista Capital Científico do Setor de Ciências Sociais Aplicadas**, v.5, n.1, 2007.

VLAEMINCK, B. et al. Rumen odd and branched chain fatty acids in relation to *in vitro* rumen volatile fatty acid productions and dietary characteristics of incubated substrates. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.88, n.11-12, p.401-411, 2004.

VLAEMINCK, B. et al. Use of odd and branched-chain fatty acids in rumen contents and milk as a potential microbial marker. **Journal of Dairy Science**, v.88, n.3, p.1031-1042, 2005.

VLAEMINCK, B. et al. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v.131, n.3-4, p.389-417, 2006.

WALSTRA, P.; GEURTS, T.J.; WOUTERS, J.T.M. **Dairy Science and Technology**. Boca Raton: CRC Press, 2006.

WANG, F-S.; JIANG, Y-N.; LIN, C-W. Lipid and cholesterol oxidation in Chinese-style sausage using vacuum and modified atmosphere packaging. **Meat Science**, v.40, n.1, p.93-101, 1995.

WANASUNDARA, P.K.J.P.D.; SHAHIDI, F. Antioxidants: science, technology, and applications. In: BAILEY, A.E. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. Ed. 6, John Wiley & Sons, Inc., 2005. Cap. 11, p.431-489.

WEAVER, C.; WIJESINHA-BETTONI, R.; MCMAHON, D.; SPENCE, L. Milk and dairy products as part of the diet. In MUEHLHOFF, E.; BENNETT, A.; MCMAHON, D. **Milk and Dairy Products in Human Nutrition**. Rome: FAO Publications, 2013.

WEIMER, P.J.; STEVENSON, D.M.; MERTENS, D.R. Shifts in bacterial community composition in the rumen of lactating dairy cows under milk fat-depressing conditions. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.1, p.265-278, 2010.

WOODS, V.B.; FEARON, A.M. Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: A review. **Livestock Science**, v.126, n.1-3, p.1-20, 2009.

YANG, S.L. et al. Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. **Animal**, v.3, n.11, p.1562-1569, 2009.

YIN, H.; XU, L.; PORTER, N.A. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. **Chemical Reviews**, v.111, n.10, p.5944-5972, 2011.

ZENED, A. et al. Starch plus sunflower oil addition to the diet of dry dairy cows results in a *trans*-11 to *trans*-10 shift of biohydrogenation. **Journal of Dairy Science**, v.96, n.1, p.451-459, 2013.

ZHAO, X. et al. Effects of different fat mixtures on milk fatty acid composition and oxidative stability of milk fat. **Animal Feed Science and Technology**, v.185, n.1-2, p.35-42, 2013.

ANEXO A – Modelo da ficha utilizada no teste de aceitabilidade do leite de vacas
suplementadas com óleo de girassol, selênio e vitamina E

FICHA

ANÁLISE SENSORIAL DE LEITE - Teste de Aceitação

NOME: _____ **IDADE** _____ **EMAIL** _____

Você recebeu uma amostra de leite de vaca pasteurizado. Por favor, olhe, cheire e prove a amostra e usando a escala abaixo indique o quanto você gostou ou desgostou de cada característica do leite.

9 = Adorei

8 = Gostei muito

7 = Gostei moderadamente

6 = Gostei ligeiramente

5 = Nem gostei / Nem desgostei

4 = Desgostei ligeiramente

3 = Desgostei moderadamente

2 = Desgostei muito

1 = Detestei

AMOSTRA _____

Característica

Nota

Cor

Odor

Sabor

Textura na boca

ANEXO B – Modelo da ficha utilizada no teste de diferença do controle do leite de vacas
suplementadas com óleo de girassol, selênio e vitamina E

FICHA

ANÁLISE SENSORIAL DE LEITE - Teste de Diferença do controle

NOME: _____ **IDADE** _____ **EMAIL** _____

Você recebeu uma amostra padrão (P) e 4 amostras codificadas. Prove a amostra padrão e em seguida, prove cada uma das amostras codificadas e avalie, utilizando a escala padrão abaixo, o quanto cada amostra codificada difere, em relação ao aroma e sabor, da amostra padrão.

1 = Não é diferente

2

3 = Pouco diferente

4

5 = Moderadamente diferente

6

7 = Muito diferente

8

9 = Extremamente diferente

GRAU DE DIFERENÇA:

AMOSTRA:	Aroma:	Sabor:
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

Comentários:
