**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Óleo de peixe em substituição parcial ao óleo de soja em dietas para
ovinos**

Evandro Maia Ferreira

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e
Pastagens**

**Piracicaba
2011**

Evandro Maia Ferreira
Zootecnista

Óleo de peixe em substituição parcial ao óleo de soja em dietas para ovinos

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 5890 de 2010

Orientador:
Prof. Dr. **ALEXANDRE VAZ PIRES**

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e
Pastagens**

Piracicaba
2011

À minha família e, em especial, aos meus amados pais Sebastião Araújo Ferreira e Edlacyr Maia Ferreira por sempre dar condições para realizar meus sonhos, pelo amor incondicional e pelo exemplo de vida.

Com orgulho de tê-los como meus pais, dedico.

As minhas queridas irmãs Elinne, Érica, Eneila e Elaine, e ao meu sobrinho João Artur pela família feliz que somos.

Com enorme carinho, ofereço.

AGRADECIMENTOS

À Deus por sempre iluminar meus caminhos;

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/ USP), pelas boas condições de trabalho e por ter me acolhido ao longo desses cinco anos;

Ao Departamento de Zootecnia e a todos os seus professores pela oportunidade a mim oferecida para a realização dos cursos de mestrado e doutorado, bem como, pela formação científica;

Ao Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires, pela orientação a partir do mestrado, confiança, amizade e valiosa contribuição à minha formação;

À Profa. Dra. Ivanete Susin, pela sempre disponibilidade em ajudar e pela grande contribuição à minha formação acadêmica e como pessoa;

Aos amigos do Grupo SIPOC, Clayton (Cirilo), Cristine, C-trero, Daniel, Fumi, Fabiane, Gustavo (Giga), Marcão, Mário (Marinho), Marlon, Michelle, Omer, Pirulão, Rafael (Harry), Renato, Rafa, Rodrigo e Susana pela grande amizade, troca de conhecimentos, momentos extremamente felizes vividos juntos, e por terem planejado e conduzido estes experimentos comigo, sou apenas um representante, mas, este trabalho é de todos nós;

Aos amigos da pós-graduação, Aliedson, Adenilson, Salim, Delci, Davi, Felipe (Maranhão), Leandro Coelho, Rafael (Kneco) e Rafael Amaral pelos momentos divertidos e boa amizade;

Aos funcionários do SIPOC, Adílson (Zica), Alexandre, Joseval, Marcos, Roberto, Benedito e Dona Ilda pelo companheirismo e ajuda durante a condução dos experimentos;

À Ana Paula Oeda e ao Carlos César Alves, pelo auxílio durante a realização das análises laboratoriais;

As funcionárias da secretaria: Ana, Cláudia, Creide e Vera, sempre muito atenciosas;

À Eliana e a Silvia da Seção de Referência da Divisão de Biblioteca da ESALQ/USP, pelo auxílio na correção deste trabalho;

À todos os amigos das repúblicas pão de queijo e viola quebrada, pelos momentos de diversão passados juntos;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP pelo financiamento deste projeto de pesquisa e pela concessão da bolsa de estudos;

Enfim, a todos que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho, e para minha formação, meus sinceros agradecimentos, aos que esqueci de mencionar sintam-se igualmente agradecidos.

Muito Obrigado!

Epígrafe

*“A mente que se abre a uma nova ideia jamais
voltará ao seu tamanho original”.*

Albert Einstein

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT	15
LISTA DE FIGURAS	17
LISTA DE TABELAS	19
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	21
1 INTRODUÇÃO	25
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
2.1 Ácido Linoleico Conjugado (CLA).....	29
2.2 Biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos	30
2.3 Produção e composição do leite em resposta à suplementação com óleo de peixe e/ou óleo de soja	30
2.4 Perfil de ácidos graxos do leite em resposta à suplementação com óleo de peixe e/ou óleo de soja	38
2.5 Consumo, metabolismo ruminal e digestibilidade dos nutrientes por animais alimentados com dietas contendo óleo de peixe e óleo de soja como fontes de gordura suplementares.....	45
Referências	49
3 PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE, E DESEMPENHO DAS CRIAS DE OVELHAS ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO ÓLEO DE PEIXE EM SUBSTITUIÇÃO PARCIAL AO ÓLEO DE SOJA	57
Resumo	57
Abstract	58
3.1 Introdução	58
3.2 Material e Métodos.....	59
3.2.1 Animais e instalações experimentais	60
3.2.2 Delineamento experimental e tratamentos	60
3.2.3 Manejo alimentar e colheita de dados	61
3.2.4 Análises químicas e cálculos.....	64
3.2.5 Composição de ácidos graxos da gordura do leite.....	65

3.2.6 Parâmetros sanguíneos	65
3.2.7 Análise estatística	66
3.3 Resultados e discussão	67
3.3.1 Peso corporal, consumo de matéria seca, produção e composição do leite	67
3.3.2 Composição de ácidos graxos do leite	78
3.4 Conclusões	84
Referências	84
4 DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DA CARÇA E COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DA CARNE DE CORDEIROS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO ÓLEO DE PEIXE EM SUBSTITUIÇÃO PARCIAL AO ÓLEO DE SOJA	91
Resumo	91
Abstract	92
4.1 Introdução	92
4.2 Material e Métodos	93
4.2.1 Local, animais e instalações experimentais	93
4.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo alimentar	94
4.2.3 Abate dos animais e características da carcaça	97
4.2.4 Composição de ácidos graxos da carne	98
4.2.5 Análise estatística	99
4.3 Resultados e discussões	100
4.3.1 Desempenho	100
4.3.2 Carcaça	102
4.4 Conclusões	111
Referências	111
5 DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES E METABOLISMO RUMINAL DE ÁCIDOS GRAXOS EM BORREGOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO ÓLEO DE PEIXE EM SUBSTITUIÇÃO PARCIAL AO ÓLEO DE SOJA	117
Resumo	117

Abstract	118
5.2 Material e Métodos	120
5.2.1 Animais e instalações experimentais	120
5.2.2 Delineamento experimental e tratamentos	121
5.2.3 Manejo alimentar e colheita de amostras	122
5.2.4 Fluxo duodenal dos nutrientes	125
5.2.5 Digestibilidade dos nutrientes, no intestino e no trato digestivo total dos borregos	125
5.2.6 Parâmetros ruminais	126
5.2.7 Análises laboratoriais e cálculos	126
5.2.8 Análise estatística	129
5.3 Resultados e discussões	130
5.4 Conclusões	149
Referências	149
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	155

RESUMO

Óleo de peixe em substituição parcial ao óleo de soja em dietas para ovinos

Três experimentos foram conduzidos com o objetivo de avaliar os efeitos do fornecimento de baixos teores de óleo de peixe em substituição parcial ao óleo de soja, sobre o consumo de matéria seca (CMS), produção e perfil de ácidos graxos do leite de ovelhas, ganho médio diário de peso corporal (GMD), características da carcaça e composição de ácidos graxos da carne de cordeiros, digestibilidade dos nutrientes, características de fermentação ruminal e metabolismo ruminal dos ácidos graxos. Os tratamentos consistiram de uma dieta controle (CONT), sem adição de óleo; e 4 dietas adicionadas com 4,0% de óleo, consistindo de 0,0% (0P); 0,25% (25P); 0,50% (50P) e 0,75% de óleo de peixe (75P), com o óleo de soja completando o teor de 4,0% de óleo adicionado (% MS). No Experimento I a dieta controle foi composta por 70% de concentrado e 30% de volumoso, nos Experimentos II e III a dieta controle foi composta por 90% de concentrado e 10% de volumoso. Experimento I: Foram utilizadas 50 ovelhas, distribuídas em delineamento experimental de blocos completos casualizados. Verificou-se aumento linear na produção de leite das ovelhas e no GMD das crias com a inclusão de óleo de peixe nas dietas. As concentrações de ácido vacênico, CLA C18:2 *trans*-10, *cis*-12, ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA) também aumentaram linearmente com os teores crescentes de inclusão de óleo de peixe. Experimento II: Foram utilizados 50 cordeiros, distribuídos em delineamento experimental de blocos completos casualizados. O CMS expresso em % do peso corporal (PC) e em g/kg de PC^{0,75} aumentou linearmente com os teores crescentes de inclusão de óleo de peixe, o que resultou em aumento linear no GMD dos cordeiros. A concentração de ácido esteárico reduziu com os teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe. Verificou-se aumento linear na concentração de ácido vacênico à medida que o óleo de peixe foi adicionado à dieta. Em comparação ao tratamento controle, os animais alimentados com as dietas contendo óleo de peixe apresentaram maior concentração de CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 na carne. Experimento III: Foram utilizados cinco borregos, canulados no rúmen e no duodeno, distribuídos em delineamento experimental quadrado latino 5 x 5. A suplementação com as fontes de óleo reduziu a digestibilidade da PB. A concentração de acetato, butirato e dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) totais foi maior no conteúdo ruminal dos animais alimentados com a dieta controle em relação aos das dietas contendo óleo, como consequência, o pH ruminal destes animais foi inferior. O fluxo duodenal de C18:1 *trans*-11 e CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 foi superior para os animais que receberam gordura suplementar. Observou-se aumento linear no fluxo duodenal de ácido C18:1 *trans*-11 em resposta a inclusão de óleo de peixe nas dietas. A inclusão de 0,75% de óleo de peixe na dieta misturado à 3,25% de óleo de soja mostrou-se como a melhor alternativa avaliada.

Palavras-chave: Ácido linoleico conjugado; Ácidos graxos; Biohidrogenação

ABSTRACT

Diets with fish oil in partial replacement of soybean oil for sheep

Three trials were conducted to evaluate the effects of small amounts of fish oil supply in partial replacement of soybean oil on dry matter intake (DMI), lactation performance and milk fatty acid composition of ewes, growth, carcass characteristics, and on meat fatty acid composition of feedlot lambs, some rumen constituents, and ruminal fatty acid metabolism. Treatments consisted of a control diet (CONT), and 4 diets with 4% added fat consisting of 0.0% (0FO), 0.25% (25FO), 0.50% (50FO) and 0.75% (75FO) fish oil with soybean oil providing the balance of 4% added fat. In trial I the control treatment consisted of 30:70 ratio of forage to concentrate (DM basis). In trials II and III the control treatment consisted of 10:90 ratio of forage to concentrate (DM basis). Trial I: Fifty Santa Inês ewes were penned individually and used in a randomized complete block design. Milk production and preweaning ADG of lambs increased linearly when fish oil replaced soybean oil. Vaccenic acid, CLA *trans*-10, *cis*-12, eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) increased linearly with fish oil inclusion. Trial II: Fifty Santa Inês ram lambs were penned individually and used in a randomized complete block design. DMI (% of BW and g/kg of BW^{0.75}) increased linearly when fish oil replaced soybean oil, as consequence ADG also increased. Stearic acid concentration decreased and vaccenic acid increased with fish oil inclusion. CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 showed higher concentration in meat of animals fed diets containing fish oil compared to the control diet. Trial III: Five ram lambs cannulated in the rumen and proximal duodenum were assigned in a 5 x 5 Latin Square design. Soybean oil and fish oil supplementations decreased CP digestibility. Ruminal concentrations of acetate, butyrate and total SCFA were higher for animals fed the control diet. Ruminal pH was lower for animals fed the control diet compared to diets with oils. Duodenal flow of C18:1 *trans*-11 and CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 was greater for diets containing supplemented oils. C18:1 *trans*-11 flow to the duodenum increased linearly with fish oil inclusion. The inclusion of 0.75% of fish oil in the diet mixed with 3.25% soybean oil was the best alternative evaluated.

Keywords: Biohydrogenation; Conjugated linoleic acid; Fatty acid

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Consumo de matéria seca (média, EP = 0,08) pelas ovelhas durante 8 semanas de lactação de acordo com as dietas experimentais: CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.....	70
Figura 2 – Vista dos animais nas instalações experimentais	121

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais, % da MS.....	62
Tabela 2 – Composição de ácidos graxos do óleo de soja e óleo de peixe	63
Tabela 3 – Peso corporal, consumo de matéria seca e produção de leite das ovelhas alimentadas com as dietas experimentais.....	69
Tabela 4 – Composição e produção dos componentes do leite das ovelhas alimentadas com as dietas experimentais.....	74
Tabela 5 – Efeito do fornecimento das dietas experimentais para as ovelhas sobre o consumo de concentrado inicial e ganho de peso de suas crias.....	77
Tabela 6 – Composição de ácidos graxos da gordura do leite das ovelhas alimentadas com as dietas experimentais.....	79
Tabela 7 – Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais, % da MS.....	95
Tabela 8 – Composição de ácidos graxos das dietas experimentais e do óleo de soja e óleo de peixe	96
Tabela 9 – Idade, peso corporal e desempenho dos cordeiros alimentadas com as dietas experimentais.....	103
Tabela 10 – Peso e rendimento de carcaça, espessura de gordura, área de olho de lombo, gordura peri renal e porcentagem de lipídios totais da carne dos cordeiros alimentados com as dietas experimentais.....	104
Tabela 11 – Composição de ácidos graxos da gordura da carne dos cordeiros alimentadas com as dietas experimentais.....	109
Tabela 12 – Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais, % da MS.....	123
Tabela 13 – Composição de ácidos graxos das dietas experimentais e do óleo de soja e óleo de peixe	124
Tabela 14 – Consumo e fluxo duodenal dos nutrientes pelos borregos alimentados com as dietas experimentais	131

Tabela 15 – Digestibilidade ruminal e intestinal dos nutrientes pelos borregos alimentados com as dietas experimentais.....	134
Tabela 16 – Digestibilidade dos nutrientes no trato digestivo total dos borregos alimentados com as dietas experimentais.....	135
Tabela 17 – Concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), amônia e pH ruminal dos borregos alimentados com as dietas experimentais	138
Tabela 18 – Consumo de ácidos graxos pelos borregos alimentados com as dietas experimentais.....	141
Tabela 19 – Composição de ácidos graxos da digesta duodenal dos borregos alimentados com as dietas experimentais.....	142
Tabela 20 – Fluxo duodenal de ácidos graxos nos borregos alimentados com as dietas experimentais.....	144
Tabela 21 – Biohidrogenação ruminal de ácidos graxos nos borregos alimentados com as dietas experimentais	147

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCC	ácidos graxos de cadeia curta
AGNE	ácidos graxos não esterificados
AOL	área de olho de lombo
BHR	biohidrogenação ruminal
C10:0	ácido cáprico
C12:0	ácido láurico
C14:0	ácido mirístico
C14:1	ácido miristoleico
C15:0	ácido pentadecanoico
C16:0	ácido palmítico
C16:1	ácido palmitoleico
C18:0	ácido esteárico
C18:1 <i>n</i> -9	ácido oléico
C18:1 <i>trans</i> -11	ácido vacênico
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	ácido rumênico
C18:2 <i>n</i> -6	ácido linoleico
C18:3 <i>n</i> -3	ácido linolênico
C18:3 <i>n</i> -6	ácido γ -linolênico
C2/C3	relação acetato/propionato
C20:5 <i>n</i> -3	ácido eicosapentaenóico (EPA)
C22:6 <i>n</i> -3	ácido docosahexaenóico (DHA)
C4:0	ácido butírico
C6:0	ácido caproico

C8:0	ácido caprílico
CCI	consumo de concentrado inicial
CCNF	consumo de carboidratos não fibrosos
CFDN	consumo de fibra insolúvel em detergente neutro
CLA	ácido linoleico conjugado
CMO	consumo de matéria orgânica
CMS	consumo de matéria seca
CNF	carboidratos não fibrosos
CPB	consumo de proteína bruta
DP	desvio padrão
EA	eficiência alimentar
EG	espessura de gordura
EPM	erro padrão da média
FDN	fibra insolúvel em detergente neutro
GMD	ganho médio diário de peso corporal
GPR	gordura peri renal
H ₂	gás hidrogênio
LCG	produção de leite corrigida para gordura 6,5% de gordura
LCGP	produção de leite corrigida para 6,5% de gordura e 5,8% de proteína
Min	minutos
MM	matéria mineral
MO	matéria orgânica
MS	matéria seca
MUFA	ácidos graxos monoinsaturados

N	nitrogênio
N ₂	gás nitrogênio
<i>n</i> -3	ácido graxo ômega-3
<i>n</i> -6	ácido graxo ômega-6
NH ₃	amônia
PB	proteína bruta
PC	peso corporal
PCA	peso corporal ao abate
PCF	peso de carcaça fria
PCQ	peso de carcaça quente
pH	potencial hidrogeniônico
PUFA	ácidos graxos poliinsaturados
PR	perda por resfriamento
RCF	rendimento de carcaça fria
RCQ	rendimento de carcaça quente

1 INTRODUÇÃO

O ácido linoleico conjugado (CLA) apresenta comprovada ação anticarcinogênica (PARIZA et al., 1979), além disso, recentemente outros efeitos benéficos do CLA, relacionados à saúde humana foram estudados. Entre eles a redução na deposição de gordura corporal, alterações na partição de nutrientes, redução no desenvolvimento de aterosclerose, aumento na mineralização óssea e modulação do sistema imune (MCGUIRE; MCGUIRE, 1999). Estes resultados promissores tem motivado a realização de vários estudos com a manipulação do metabolismo ruminal por meio do fornecimento de fontes de óleos insaturados, com o objetivo de aumentar os teores de CLA nos produtos alimentícios oriundos de animais ruminantes, que são a principal fonte fornecedora de CLA na dieta humana.

A síntese de CLA por animais ruminantes pode ocorrer através da biohidrogenação incompleta do ácido linoleico C18:2 *cis*-9, *cis*-12, em que, após a lipólise os ácidos graxos livres sofrem isomerização da dupla ligação *cis*-12, formando o CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11. Em seguida, ocorre a redução da ligação *cis*, com a formação do ácido vacênico (C18:1 *trans*-11). O último passo no processo de biohidrogenação é a redução final do ácido vacênico com a formação do ácido esteárico (C18:0) (HARFOOT; HAZLEWOOD, 1988).

Outra forma de síntese de CLA é a endógena, que envolve a enzima Δ^9 -dessaturase e o ácido vacênico como substrato (GRIINARI et al., 2000; MOSLEY et al., 2006). Esta enzima adiciona uma insaturação no carbono nove do C18:1 *trans*-11, formando o CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11. Desse modo, o aumento na concentração de CLA na carne ou no leite pode ser obtido por meio da utilização de estratégias alimentares que aumentem o seu precursor (C18:1 *trans*-11) para a síntese endógena (BAUMAN; LOCK, 2006).

O óleo de peixe quando adicionado à dieta, através da inibição do último passo do processo de biohidrogenação (conversão do ácido vacênico C18:1 *trans*-11 em esteárico C18:0) aumenta significativamente a concentração de ácido vacênico (WHITLOCK et al., 2006) e de CLA (DONOVAN et al., 2000) em produtos de ruminantes.

Donovan et al. (2000) alimentaram vacas leiteiras com dietas contendo 0, 1, 2 ou 3% de óleo de peixe (% da MS) e verificaram que o tratamento com 2% de óleo de peixe foi o que propiciou maior concentração de CLA no leite, isto pode ter ocorrido devido à

pequena quantidade de precursores de ácido vacênico e CLA presentes no óleo de peixe. Whitlock et al. (2006) forneceram 0; 0,33; 0,67 e 1,0% de óleo de peixe associado com teores crescentes de óleo de soja de modo a perfazerem 2,0% de óleo na dieta (% da MS) e verificaram que a produção de CLA no leite estabilizou com o fornecimento de 0,33% de óleo de peixe. Ramaswamy et al. (2001) também observaram sinergismo no fornecimento de óleo de peixe com outra fonte de ácido linoleico em aumentar a concentração de CLA.

Além disso, altas inclusões de óleo de soja na dieta (6 % da MS) de ovelhas resultaram em aumento na concentração de CLA no leite sem comprometer o consumo de matéria seca (CMS) ou produção de leite dos animais (GÓMEZ-CORTÉS et al., 2008). Em contrapartida, o fornecimento de dietas com inclusões de óleo de peixe acima de 1,0% (% da MS) tem consistentemente reduzindo o CMS, e a produção de leite (CHOUINARD et al., 2001; DONOVAN et al., 2000; WHITLOCK et al., 2002).

Diante disso, as hipóteses no presente estudo, são: em dietas com altos teores de ácidos graxos poliinsaturados, o fornecimento de pequena quantidade de óleo de peixe é suficiente para maximizar a síntese ruminal de ácido vacênico e CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 no leite e na carne de ovinos, sem afetar o CMS, a produção de leite, e o ganho de peso dos animais.

Os objetivos foram avaliar o fornecimento de teores crescentes de óleo de peixe em substituição parcial ao óleo de soja, sobre a produção de leite, o ganho de peso, as características da carcaça, o perfil de ácidos graxos do leite e da carne, as características de fermentação ruminal, a digestibilidade dos nutrientes, o fluxo duodenal e a biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos em ovinos da raça Santa Inês.

Referências

BAUMAN, D.E.; LOCK, A.L. Conjugated linoleic acid: biosynthesis and nutritional significance. In: FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.H. **Advanced dairy chemistry**. New York: Springer, 2006. v. 3, p. 93-136.

CHOUINARD, P.Y.; CORNEAU, L.; BUTLER, W.R.; CHILLIARD, Y.; DRACKLEY, J.K.; BAUMAN, D.E. Effects of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 3, p. 680-690, 2001.

DONOVAN, D.C.; SCHINGOETHE, D.J.; BAER, R.J.; RYALI, J.; HIPPEN, A.R.; FRANKLING, S.T. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 11, p. 2620-2628, 2000.

GÓMEZ-CORTÉS, P.; FRUTOS, P.; MANTECÓN, A.R.; JUÁREZ, M.; FUENTE, M.A.F.; HERVÁS, G. Milk production, conjugated linoleic acid content, and in vitro ruminal fermentation in response to high levels of soybean oil in dairy ewe diet. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 4, p. 1560-1569, 2008.

GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H.; CHOUINARD, P.Y.; NURMELA, K.V.V.; BAUMEN, D.E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by delta9-desaturase. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, n. 9, p. 2285-2291, 2000.

HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P.N. **The rumen microbial ecosystem**. London: Elsevier Applied Science, 1988. chap. 9, p. 285-322.

McGUIRE, M.A.; McGUIRE, M.K. Conjugated linoleic acid (CLA): a ruminant fatty acid with beneficial effects on human health. In: AMERICAN SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE. 1999. **Proceedings...** Disponível em: <<http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings>>. Acesso em: 15 maio 2003.

MOSLEY, E.E.; SHAFFI, B.; MOATE, P.J.; McGUIRE, M.A. *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid is synthesized directly from vaccenic acid in lactating dairy cattle. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 136, n. 3, p. 570-575, 2006.

PARIZA, M.W.; ASHOOT, S.H.; CHU, F.S.; LUND, D.B. Effects of temperature and time on mutagen formation in pain fried hamburger. **Cancer Letter**, Amsterdam, v. 7, n. 2, p. 63-69, 1979.

RAMASWAMY, N.; BAER, R.J.; SHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KASPERSON, K.M.; WHITLOCK, L.A. Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 10, p. 2144-2151, 2001.

WHITLOCK, L.A.; SCHINGOETHE, D.J.; ABUGHAZALEH, A.A.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F. Milk production and composition from cows fed small amounts of fish oil with extruded soybeans. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 10, p. 3972-3980, 2006.

WHITLOCK, L.A.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; BAER, R. J.; RAMASWAMY, N.; KASPERSON, K.M. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 1, p. 234-243, 2002.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Ácido Linoleico Conjugado (CLA)

O termo CLA refere-se de maneira coletiva a um ou mais isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12) (PARODI, 1997), com duplas ligações nas posições 7 e 9, 8 e 10, 9 e 11, 10 e 12, 11 e 13 e 12 e 14 (SIERBER et al., 2004). Segundo Jensen (2002), cada dupla ligação do CLA pode apresentar configuração *cis* ou *trans*, embora as bioatividades sejam exclusivas das que apresentam configuração *trans*.

O CLA de origem animal pode ser obtido a partir da biohidrogenação parcial do ácido linoleico no rúmen ou da síntese endógena no tecido adiposo e na glândula mamária. A síntese endógena envolve a enzima Δ^9 -dessaturase e o ácido vacênico (C18:1 *trans*-11) como substrato (GRINARI et al., 2000; MOSLEY et al., 2006). Essa enzima atua adicionando uma insaturação no carbono nove do ácido vacênico, formando o CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11, ou em ácidos graxos saturados, como o ácido esteárico, formando ácidos graxos monoinsaturados. A carne e o leite de animais ruminantes são os produtos que apresentam as maiores concentrações de CLA na natureza, variando, de menos de 0,2% a mais de 2,0% (KHANAL; OLSON, 2004). Isso, tem estimulado vários estudos com a manipulação do metabolismo ruminal por meio de fornecimento do ácidos graxos insaturados.

O óleo de peixe quando adicionado à dieta, por inibir o último passo do processo de biohidrogenação (conversão do ácido vacênico C18:1 *trans*-11 em esteárico C18:0) aumenta significativamente a concentração ruminal de ácido vacênico (WHITLOCK et al., 2006). Entretanto, ele contém baixas quantidades de precursores destes ácidos graxos, por isso acredita-se que o óleo de peixe aumenta a conversão de ácido linoleico e linolênico de outros ingredientes da dieta em ácido vacênico e CLA. O aumento do teor de ácido vacênico com o óleo de peixe é importante porque tanto bovinos (GRINARI et al., 2000) quanto humanos (ADLOF; DUVAL; EMKEN, 2000) são capazes de sintetizar CLA de maneira endógena.

2.2 Biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos

O processo de biohidrogenação é responsável pelo aumento na produção de ácidos graxos saturados que chega ao duodeno de ruminantes e também pela síntese ruminal de CLA e de ácido vacênico que são eventualmente incorporados à carne ou ao leite. O processo de biohidrogenação consiste de dois eventos: a lipólise e a biohidrogenação.

A lipólise é um pré-requisito para que ocorra a biohidrogenação (CHALUPA; KUTCHES, 1968). Os lipídios esterificados da dieta são hidrolisados extensivamente por lipases microbianas ruminais, que promovem a liberação dos seus ácidos graxos constituintes (JENKIS, 1993).

No processo de biohidrogenação, os ácidos graxos insaturados livres sofrem isomerização da dupla ligação *cis*-12, tanto no ácido linoleico como no linolênico, formando as duplas ligações conjugadas. O CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 é formado como intermediário na biohidrogenação do ácido linoleico. Em seguida ocorre a redução da ligação *cis*, com a formação do ácido vacênico (C18:1 *trans*-11). O último passo no processo de biohidrogenação é a redução do ácido vacênico com formação do ácido esteárico (C18:0) (HARFOOT; HAZLEWOOD, 1988). O processo de biohidrogenação ruminal é bem descrito para o ácido linoleico; entretanto, para outros ácidos graxos estas rotas não estão totalmente descritas. O processo de biohidrogenação dos ácidos graxos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), presentes em maiores quantidades no óleo de peixe, parecem resultar numa gama muito grande de intermediários pouco conhecidos. O mecanismo de biohidrogenação do EPA e DHA é muito mais complexo e não está totalmente compreendido.

Em função do efeito negativo do óleo de peixe sobre o consumo de matéria seca (CMS), vários trabalhos têm buscado utilizar o óleo de peixe em associação a outras fontes de ácidos graxos poliinsaturados para aumentar o teor de CLA, sem afetar o CMS.

2.3 Produção e composição do leite em resposta à suplementação com óleo de peixe e/ou óleo de soja

As estratégias alimentares, além de melhorarem a composição lipídica do leite, devem também garantir bom desempenho produtivo aos animais, sendo a produção de leite, composição e rendimento dos componentes do leite fatores fundamentais para a funcionalidade econômica de qualquer tecnologia ligada ao sistema produtivo. Com relação ao óleo de peixe é bem demonstrado na literatura que seu fornecimento aos animais promove amplo benefício à composição lipídica do leite, entretanto, sua utilização também afeta o consumo, a produção e a composição do leite, assim, o objetivo neste tópico é sumarizar os resultados disponíveis na literatura a este respeito.

Foram revisados 11 trabalhos que apresentaram dados de produção e composição do leite de animais que receberam óleo de peixe na forma não “protegida”. Em um deles foi verificado aumento na produção de leite (WHITLOCK et al., 2006). Em três trabalhos a produção de leite diminuiu (ANNETT et al., 2009; DONOVAN et al., 2000; KITESSA et al., 2001) e em 6 trabalhos o óleo de peixe não afetou a produção de leite (BHARATHAN et al., 2008; CASTAÑEDA-GUTIÉRREZ et al., 2007; LOOR et al., 2005; PALMQUIST; GRIINARI, 2006; SHINGFIELD et al., 2006; TORAL et al., 2010).

Em alguns trabalhos a produção de leite esteve relacionada ao CMS, o decréscimo de 28,2% (1,88 vs 1,5 kg/dia, dieta sem óleo vs adicionada com 3,0% de óleo de peixe, respectivamente) na produção de leite acompanhou uma redução de 49,7% (2,69 vs 1,35 kg/dia) no CMS (KITESSA et al., 2001). Entretanto, houve situações em que o consumo não explicou totalmente a resposta verificada na produção de leite. Em um consumo similar (23,1; 22,6; 22,8 e 22,9 kg de MS/dia) foi verificado aumento na produção de leite (21,5; 23,7; 22,7 e 24,2 kg/dia) em resposta a inclusão de 0; 0,33; 0,67 e 1,0%, respectivamente, de óleo de peixe na dieta (WHITLOCK et al., 2006).

Na comparação do fornecimento de dietas contendo óleo de peixe em baixa concentração na forma de sais de Ca vs infusão ruminal de óleo de peixe, houve redução de 15,5% no CMS (21,9 vs 18,5 kg/dia, respectivamente) sem efeito sobre a produção de leite (23,4 vs 24,4 kg/dia) (CASTAÑEDA-GUTIÉRREZ et al., 2007). A adição de teores crescentes de óleo de peixe (0; 0,33; 0,67 e 1,0%; balanço para 3,0% de óleo suplementar completado com óleo de girassol) reduziu linearmente o consumo (10,5%) sem afetar a produção de leite (22,1; 21,6; 20,3 e 19,8 kg/dia) (PALMQUIST; GRIINARI, 2006). A redução de 20,5% no CMS (21,9 vs 17,4 kg/dia; dieta controle vs 1,5% de óleo

de peixe + 3,0% de óleo de girassol, respectivamente) também não afetou a produção de leite (27,1 vs 26,4 kg/dia) (SHINGFIELD et al., 2006). Estes resultados indicam bom potencial de uso do óleo de peixe mesmo quando causa pequena redução no CMS. Em termos quantitativos, Donovan et al. (2000) mostraram que pode-se incluir até 1,0% de óleo de peixe sem prejuízos ao consumo e a produção de leite.

A respeito da utilização de óleo de soja, foram analisados 6 trabalhos. Em 5 deles o óleo de soja não afetou o CMS e nem a produção de leite (BOUATTOUR et al., 2008; FREITAS Jr. et al., 2010; GÓMEZ-CORTÉS et al., 2008; HUANG et al., 2008; LOOR et al., 2003). A inclusão de óleo de soja nestes experimentos variou de 3,0 a 6,0% da MS. Apenas em 1 trabalho verificou-se redução de 6,3% (19,0 vs 17,8 kg/dia) no CMS quando foi comparada uma dieta controle vs adição de 2,25% (% MS) de óleo de soja (EIFERT et al., 2006).

O fornecimento do óleo de peixe associado ao óleo de soja quando comparado ao fornecimento destas fontes separadamente não afetou o consumo ou a produção de leite (ABUGHAZALEH et al., 2002; WHITLOCK et al., 2002). Nesses dois experimentos foi comparada a inclusão de 2,0% de óleo de peixe ou 2,0% de óleo de soja vs a mistura de 1,0% de óleo de peixe com 1,0% de óleo de soja. Sendo esta, uma boa estratégia de uso do óleo de peixe, uma vez que existem benefícios adicionais desta mistura com relação à melhoria do perfil de ácidos graxos do leite quando comparada ao fornecimento do óleo de soja separadamente (RAMASWAMY et al., 2001; WHITLOCK et al., 2002).

De maneira consistente a utilização do óleo de peixe reduz o teor de gordura do leite. Quando fornecido como fonte única de gordura suplementar, o óleo de peixe reduziu em 37,0% (46,0 vs 29,0 g/kg; controle vs 1,5% de óleo de peixe + 3,0% de óleo de soja) (SHINGFIELD et al., 2006), em 8,3% (3,6 vs 3,3%; controle vs 0,5% óleo de peixe) (BRARATHAN et al., 2008), e em 12,6% (5,89 vs 5,15%; controle vs 1,0% óleo de peixe) (TORAL et al., 2010) o teor de gordura do leite. Com ovelhas recém paridas o teor de gordura do colostro diminuiu em 32,0% (149,0 vs 101,3 g/kg; controle vs 30 g/dia de óleo de peixe) (ANNETT et al., 2009). Em todos esses trabalhos a diminuição no teor de gordura resultou em decréscimo na produção (g de gordura/dia) de gordura do leite (ANNETT et al., 2009; BHARATHAN et al., 2008; SHINGFIELD et al., 2006; TORAL et al., 2010). Estes resultados confirmam os previamente obtidos por Donovan et al. (2000) que

incluiram 0; 1,0; 2,0 e 3,0% de óleo de peixe na dieta e verificaram redução linear na porcentagem e no rendimento de gordura do leite.

Na tentativa de evitar os prejuízos causados por altas quantidades de óleo de peixe, alguns autores avaliaram a utilização de pequenas inclusões de óleo de peixe associado ao óleo de soja. O fornecimento de teores crescentes de óleo de peixe (controle; 0,33; 0,67 e 1,0% + óleo de soja para completar 2,0% da MS) resultou em decréscimo de 12,2% (4,42 vs 3,88%; contraste controle vs dietas com óleo) no teor de gordura do leite, neste caso o rendimento de gordura (kg/dia) foi menor apenas no teor de 0,67% de óleo de peixe (WHITLOCK et al., 2006). Quando comparado ao óleo de soja, ambos compondo 2,0% da MS da dieta, o óleo de peixe diminui em 14,7% o teor de gordura (3,27 vs 2,79%) (WHITLOCK et al., 2002).

Provavelmente, a redução na gordura do leite está relacionada a alterações que o óleo de peixe provoca sobre o metabolismo ruminal, uma vez que a infusão de óleo de peixe (16 g/dia de EPA e 21 g/dia de DHA) no rúmen reduziu a porcentagem em 22,5% e o rendimento em 16,1% de gordura do leite quando comparada a mesma quantidade de óleo de peixe infundida no abomaso (CASTAÑEDA-GUTIÉRREZ et al., 2007).

Alguns autores demonstraram que o aumento no suprimento de ácidos graxos de cadeia *trans* (KALSCHEUR et al., 1997a; 1997b; ROMO et al., 1996) ou de isômeros de CLA (CHOUINARD et al., 1999; LOOR; HERBEIN, 1998) provocam depressão no teor de gordura do leite. Entretanto, a falta de consistência nos resultados entre o aumento na concentração de ácidos graxos de cadeia *trans* e o decréscimo no teor de gordura do leite, levou Griinari, Chouinard e Bauman (1997) a sugerir que este efeito é ocasionado por isômeros *trans* específicos. Griinari et al. (1998) verificaram aumento na concentração do isômero C18:1 *trans*-10 em resposta a dietas que provocaram depressão da gordura do leite, indicando que este isômero foi o responsável.

O C18:1 *trans*-10 encontrado na gordura do leite origina-se da redução do CLA *trans*-10, *cis*-12, sintetizado a partir da biohidrogenação incompleta do ácido linoleico (BAUMAN et al., 1999). Para evitar confundimento nas respostas, Baumgard et al. (2000) infundiram ~ 10 g/dia dos isômeros CLA *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12 no abomaso de vacas em lactação, e demonstraram que o CLA *trans*-10, *cis*-12 reduz o teor de gordura do leite, não havendo efeito do CLA *cis*-9, *trans*-11 sobre este parâmetro.

Chouinard et al. (1999) e Baumgard et al. (2000) observaram decréscimo na síntese de ácidos graxos de cadeia curta (C4:0 a C14:0) em condições de depressão da síntese de gordura do leite e sugeriram que o CLA poderia exercer algum efeito inibidor nas enzimas relacionadas com a síntese *de novo* de ácidos graxos na glândula mamária. Redução na atividade das enzimas acetil-CoA-carboxilase, ácido graxo sintetase e decréscimo na abundância de RNAm para acetil-CoA-carboxilase foi observado em vacas com depressão no teor de gordura do leite (PIPEROVA et al., 2000).

Para examinar o mecanismo específico pelo qual o CLA *trans*-10, *cis*-12 inibe a síntese de gordura no leite, Baumgard et al. (2002) infundiram 13,6 g/dia de CLA *trans*-10, *cis*-12 purificado no abomaso de vacas e verificaram redução no teor (42%) e no rendimento (48%) de gordura do leite, ocasionado por uma redução de 63% na porcentagem de ácidos graxos de cadeia curta (C4 a C16). De acordo com estes autores a capacidade lipogênica da glândula mamária foi reduzida em 82%, acompanhando um decréscimo de 40, 39 e 48% na abundância de RNAm para as enzimas ácido graxo sintetase, acetil-CoA-carboxilase e estearoil-CoA dessaturase, respectivamente. Recentemente, a ação inibitória do CLA *trans*-10, *cis*-12 sobre a síntese de gordura na glândula mamária de vacas foi confirmada por Gervais et al. (2009), eles verificaram redução de 46 e 57% na expressão de RNAm para a acetil-CoA-carboxilase e ácido graxo sintetase, respectivamente, em resposta a infusão intravenosa de 10 g/dia de CLA *trans*-10, *cis*-12.

O fornecimento de teores crescentes (100, 200 e 400 g/dia) de sais de Ca de ácidos C18:1 *trans* isômeros (28,1% de *trans*-10) resultou em redução linear no teor e no rendimento de gordura do leite, ao mesmo tempo a suplementação com 100g de isômeros de CLA (35,83% de *trans*-10, *cis*-12) decresceu em 25 e 23% o teor e o rendimento de gordura do leite, respectivamente, o contraste entre a suplementação com os ácidos graxos de cadeia *trans* (C18:1) vs CLA *trans*-10, *cis*-12 mostrou o CLA como mais potente inibidor da síntese de gordura (3,10 vs 2,54% de gordura no leite, respectivamente) (PIPEROVA et al., 2004).

Os primeiros estudos que demonstraram ser o CLA *trans*-10, *cis*-12 um potente inibidor da síntese de gordura do leite foram realizados com vacas leiteiras (BAUMGARD et al.; 2002; GERVAIS et al., 2009; PIPEROVA et al., 2000). Entretanto, estudos

posteriores com ovelhas (LOCK et al., 2006; SINCLAIR et al., 2007) e com cabras (LOCK et al., 2008) também demonstraram similar depressão na gordura do leite em resposta a suplementação com este isômero. De acordo com Lock et al. (2006) os ácidos graxos derivados da síntese de novo (<C16) responderam por 52%, os de C16 por 28% e os derivados exclusivamente da circulação (>C16) por 20% do decréscimo na gordura do leite de ovelhas. Portanto, também com ovinos a ação inibitória do CLA sobre as enzimas chaves da lipogênese na glândula mamária é a maior responsável pela depressão na gordura do leite, a exemplo do verificado com vacas em lactação (BAUMGARD et al., 2002).

Baseado na hipótese de que a depressão de gordura do leite não pode ser completamente explicada por alterações na concentração de *trans*-10, *cis*-12 (PETERSON; MATITASHVILI; BAUMAN, 2003); alguns autores têm investigado a possibilidade de outros ácidos graxos estarem envolvidos com este efeito, e existem evidências de que o isômero C18:2 *trans*-9, *cis*-11 também pode provocar depressão da gordura do leite, embora em menor proporção que o *trans*-10, *cis*-12 (PERFIELD et al., 2007). É importante ressaltar que neste trabalho observaram-se redução na gordura do leite somente quando foi utilizada uma mistura de isômeros de CLA (32% *trans*-9, *cis*-11; 29% *cis*-9, *trans*-11 e 17% *trans*-9, *trans*-11), mas quando foi utilizado o CLA *trans*-9, *trans*-11 altamente purificado (>90%), esta resposta não foi verificada, o que coloca em dúvida o efeito do *trans*-9, *trans*-11 como um inibidor específico da síntese de gordura do leite. Por meio da infusão intravenosa, Gervais e Chouinard (2008) avaliaram a possibilidade dos trienos C18:3 *cis*-9, *trans*-11, *cis*-15 ou *cis*-9, *trans*-13, *cis*-15 interferirem na síntese de gordura do leite, entretanto, não houve evidências a este respeito.

A depressão na gordura do leite em animais recebendo óleo de peixe (ANNETT et al., 2009; BHARATHAN et al., 2008; SHINGFIELD et al., 2006; TORAL et al., 2010) tem sido acompanhada por aumento na concentração dos isômeros C18:1 *trans* ou CLA *trans*-10, *cis*-12 (BHARATHAN et al., 2008; SHINGFIELD et al., 2006; TORAL et al., 2010; WHITLOCK et al., 2006). Estes resultados sugerem que pelo menos em parte o decréscimo no teor de gordura do leite de animais alimentados com óleo de peixe é devido ao aumento na concentração destes isômeros.

Quanto ao teor de proteína do leite, a avaliação do óleo de peixe como fonte exclusiva de gordura suplementar não tem mostrado resultados consistentes. Alguns autores não verificaram efeito (ABUGHAZALEH, 2008; BHARATHAN et al., 2008; KITESSA et al., 2001; OR-RASHID et al., 2010; RAMASWAMY et al., 2001) e outros verificaram redução no conteúdo deste componente (LOOR et al., 2005; SHINGFIELD et al., 2006; TORAL et al., 2010) em resposta a utilização do óleo de peixe.

Frequentemente, o decréscimo no teor de proteína do leite é atribuído ao efeito de diluição em função do aumento na produção de leite e não a um efeito direto na síntese. Entretanto, com a utilização de dietas contendo óleo de peixe, observou-se redução no teor de proteína do leite mesmo em situações em que a produção de leite não foi afetada (LOOR et al., 2005; SHINGFIELD et al., 2006; TORAL et al., 2010). Outros autores observaram decréscimo no rendimento de proteína do leite em resposta ao fornecimento de óleo de peixe (DONOVAN et al., 2000; SHINGFIELD et al., 2003, 2006; WHITLOCK et al., 2002). Esta redução no rendimento esteve relacionada à menor produção de leite nos trabalhos de Donovan et al. (2000) e Shingfield et al. (2003), mas, a produção de leite não foi afetada nos trabalhos de Shingfield et al. (2006) e Whitlock et al. (2002).

Embora, uma parte dos resultados dá suporte a ideia de que o principal efeito regulador do conteúdo e rendimento da proteína do leite seja a produção, outros dão subsídios para a possibilidade de existirem outros fatores envolvidos com este efeito. É bem conhecido que o teor de proteína do leite é positivamente correlacionado com a densidade energética da dieta (PULINA et al., 2006). Ovelhas alimentadas com dietas contendo alto teor de concentrado e consequentemente alta densidade energética apresentaram maior produção de leite, conteúdo e rendimento de proteína do leite em comparação as alimentadas com dietas com baixo teor de concentrado (baixa densidade energética) (SUSIN et al., 1995).

Como apresentado anteriormente, é comum o fornecimento de óleo de peixe provocar efeito negativo sobre o CMS (DONOVAN et al., 2000), o que faz desta, uma hipótese plausível para explicar a redução no teor de proteína do leite de animais alimentados com óleo de peixe. Com dietas contendo a mesma densidade energética e produção de leite similar, a infusão do óleo de peixe no rúmen reduziu o teor de proteína do leite, mas quando a mesma quantidade de óleo de peixe foi infundida no duodeno não

houve efeito sobre esta variável (LOOR et al., 2005). Isto sugere um efeito direto do óleo de peixe sobre a população microbiana no rúmen, o que poderia afetar o suprimento de aminoácido no duodeno.

Não existem fortes evidências de que o óleo de soja afeta o teor e o rendimento de proteína do leite (ABUGHAZALEH et al., 2002; BOUATTOUT et al., 2008; EIFERT et al., 2006; FREITAS Jr. et al., 2010; LOOR; HERBEIN, 2003; RAMASWAMY et al., 2001). Uma alta inclusão de óleo de soja (6% da MS) em dietas para ovelhas resultou em tendência de decréscimo no teor de proteína do leite, mas não afetou seu rendimento (g/dia) (GÓMEZ-CORTÉS et al., 2008). A substituição parcial do óleo de soja pelo óleo de peixe também não afetou o teor ou o rendimento de proteína do leite (WHITLOCK et al., 2006). Abughazaleh et al. (2002); Almeida (2008) e Ramaswamy et al. (2001) compararam a utilização do óleo de peixe vs o óleo de soja e não verificaram diferença quanto ao teor e rendimento de proteína do leite. Decréscimo no rendimento de proteína do leite foi verificado por Whitlock et al. (2002) quando compararam dietas contendo óleo de peixe vs óleo de soja, mas isso foi estritamente devido à menor produção de leite dos animais alimentados com óleo de peixe.

Quanto à lactose, este é o componente mais estável do leite, sendo mais difícil de ser alterado por meio da manipulação dietética, principalmente devido a sua mais alta taxa de síntese em resposta a modificações na produção de leite, quando comparada as taxas de síntese de gordura e proteína (PULINA et al., 2006). Colaborando com esta ideia o fornecimento de óleo de peixe (ABUGHAZALEH et al., 2002, ABUGHAZALEH, 2008; ALMEIDA, 2008; BHARATHAN et al., 2008; DONOVAN et al., 2000; RAMASWAMY et al., 2001; SHINGFIELD et al., 2003, 2006) ou óleo de soja (ABUGHAZALEH et al., 2002; ALMEIDA, 2008; LOOR; HERBEIN, 2003; RAMASWAMY et al., 2001) não tem afetado o teor de lactose do leite. Entretanto, aumento no teor de lactose foi verificado em resposta a utilização do óleo de peixe, quando este foi incluído na dieta em substituição parcial ao óleo de soja (WHITLOCK et al., 2006). Loor et al. (2005) ao infundirem 300 mL de óleo de peixe no duodeno de vacas também observaram aumento no teor de lactose, mas quando a mesma quantidade de óleo foi infundida no rúmen, o teor de lactose não se alterou.

2.4 Perfil de ácidos graxos do leite em resposta à suplementação com óleo de peixe e/ou óleo de soja

O objetivo neste tópico é revisar as modificações que a suplementação de ovelhas e vacas com fontes ricas nos ácidos graxos linoleico, eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) causam sobre o perfil lipídico do leite.

É consistente o efeito que a suplementação com óleo de peixe causa em reduzir a concentração dos ácidos graxos de cadeia curta do leite. De 6 trabalhos que avaliaram o óleo de peixe e que apresentaram o cálculo da concentração dos ácidos graxos conforme o comprimento da cadeia carbônica, cinco verificaram redução na concentração dos ácidos graxos de cadeia curta (ABUGHAZALEH et al., 2002; DONOVAN et al., 2000; RAMASWAMY et al., 2001; WHITLOCK et al., 2002, 2006) e um trabalho não verificou efeito (SHINGFIELD et al., 2003). Resposta semelhante foi observada com relação aos ácidos graxos de cadeia média, cuja concentração reduziu com o fornecimento do óleo de peixe em 4 de 5 trabalhos revisados (ABUGHAZALEH et al., 2002; RAMASWAMY et al., 2001; WHITLOCK et al., 2002, 2006), em um trabalho (DONOVAN et al., 2000) não houve efeito dos tratamentos. Em todos os trabalhos verificou-se aumento na concentração dos ácidos graxos de cadeia longa (ABUGHAZALEH et al., 2002; DONOVAN et al., 2000; RAMASWAMY et al., 2001; WHITLOCK et al., 2002, 2006) em resposta ao fornecimento de óleo de peixe.

A redução na concentração dos ácidos graxos de cadeia curta e média no leite é atribuída à menor síntese de *novo* de ácidos graxos na glândula mamária, provavelmente devido a uma redução na atividade da enzima acetil-CoA- carboxilase na presença de ácidos graxos de cadeia longa (GRUMER, 1991). Entretanto, esta hipótese foi questionada pela ausência de efeito da infusão intravenosa de triglicerídeos sobre a redução na concentração de ácidos graxos de cadeia curta e média (STORRY; TUCKLEY; HALL, 1969), o que levou a suposição que este efeito tem origem no rúmen, devido a uma provável redução na fermentação ruminal com a ingestão de lipídios, o que poderia propiciar menor suprimento de acetato e 3-OH-butirato.

A absorção e transferência dos ácidos graxos de cadeia longa da dieta para o leite justificam suas maiores concentrações no leite (PALMQUIST; GRIINARI, 2006). Esta

hipótese é condizente com o fato de que aproximadamente 50% da gordura do leite advém de lipídios do plasma, e que 88% dos ácidos graxos derivados do sangue têm origem dietética e apenas 12% é de contribuição endógena (PALMQUIST; MATTOS, 1978).

Com aumento da preocupação das pessoas com a saúde, tem havido um direcionamento nas pesquisas para modificar a composição lipídica do leite, principalmente no sentido de diminuir a concentração dos ácidos graxos saturados de cadeia média e aumentar os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa. Neste sentido, o fornecimento de óleo de peixe como fonte exclusiva de gordura suplementar tem se mostrado boa alternativa.

Donovan et al. (2000) avaliaram dietas contendo 0 (controle), 1, 2 e 3% de inclusão de óleo de peixe, verificaram redução de 21,1% nos ácidos graxos saturados e aumento de 34,2% nos ácidos graxos insaturados na comparação entre o tratamento controle e o com 3% de óleo de peixe. Ramaswamy et al. (2001) verificaram que a adição de 2% de óleo de peixe na dieta reduziu em 12,4% a concentração dos ácidos graxos saturados e aumentou em 28,4% a dos ácidos graxos insaturados, similar resposta foi observada por Shingfield et al. (2006).

Outros trabalhos avaliaram o óleo soja como fonte única de gordura suplementar (BOUATTOUR et al., 2008) ou misturado ao óleo de peixe em diferentes proporções (ABUGHAZALEH et al., 2002; RAMASWAMY et al., 2001; WHITLOCK et al., 2002, 2006) e também verificaram redução na concentração dos ácidos graxos saturados, acompanhado por aumento na concentração dos ácidos graxos insaturados do leite. Com relação à substituição parcial do óleo de soja pelo óleo de peixe, Whitlock et al. (2006) avaliaram dietas contendo 0% de óleo de soja ou peixe, 0,33% de óleo de peixe e 1,67% de óleo de soja, 0,67% de óleo de peixe e 1,33% de óleo de soja e 1,0% de óleo de peixe misturado a 1,0% de óleo de soja, e não verificaram efeito dos teores crescentes de óleo de peixe sobre a concentração dos ácidos graxos saturados e insaturados do leite. O que sugere que o óleo de peixe e o óleo de soja exercem efeito semelhante sobre estas variáveis.

Valores de referência da concentração (g/100 g de gordura do leite) de ácidos graxos saturados no leite de vacas recebendo dietas sem adição de óleo ou adicionadas

com óleo de peixe, são respectivamente, 61,07 vs 48,20; 69,59 vs 60,94; 69,53 vs 63,06; 65,73 vs 57,45 (ABUGHAZALEH et al., 2002; DONOVAN et al., 2000; RAMASWAMY et al., 2001; WHITLOCK et al., 2002). Com ovelhas nas mesmas comparações observaram-se valores de 74,76 vs 70,21 (TORAL et al., 2010). Vacas alimentadas com óleo de soja apresentaram 60,81 (RAMASWAMY et al., 2001); 61,59 (ABUGHAZALEH et al., 2002) e 57,61 (WHITLOCK et al., 2002).

Alguns exemplos da concentração (g/100 g de gordura do leite) de ácidos graxos insaturados no leite de vacas recebendo dietas sem adição de óleo ou adicionadas com óleo de peixe, são respectivamente, 30,41 vs 39,06; 24,62 vs 27,40 e 27,71 vs 32,41 (ABUGHAZALEH et al., 2002; RAMASWAMY et al., 2001; WHITLOCK et al., 2002). Com ovelhas, nas mesmas comparações observaram-se valores de 25,18 vs 30,14 (TORAL et al., 2010). Vacas alimentadas com óleo de soja apresentaram 39,19 (RAMASWAMY et al., 2001); 31,64 (ABUGHAZALEH et al., 2002) e 35,14 (WHITLOCK et al., 2002).

Visto que a suplementação com óleo de peixe ou soja reduz a concentração dos ácidos graxos saturados, é importante investigar quais destes ácidos graxos são mais afetados. Donovan et al. (2000) avaliaram dietas com 0, 1, 2 e 3% de óleo de peixe (% MS) e verificaram redução de 28,4% na concentração (g/100 g de gordura) de C6:0 (2,04 vs 1,46); 35,7 % na de C8:0 (1,29 vs 0,83); 39,4% na de C10:0 (3,12 vs 1,89); 37,0% na de C12:0 (3,70 vs 2,33); 17,51% na de C:14 (11,31 vs 9,33) e 57,0% na de C18:0 (9,38 vs 4,03) quando compararam as dietas contendo 0 vs 3% de óleo de peixe, indicando que o ácido esteárico é o mais afetado pela inclusão de óleo de peixe.

Outros autores também têm reportado acentuada redução na concentração de esteárico em resposta ao fornecimento de óleo de peixe. Ramaswamy et al. (2001) verificaram decréscimo de 45,1% (7,96 vs 4,37) e Whitlock et al. (2002) de 56,9% (7,13 vs 3,06) na concentração deste ácido graxo no leite quando incluíram 2% de óleo de peixe na dieta (% MS).

Quanto à utilização do óleo de soja, Abughazaleh et al. (2002) e Whitlock et al. (2002) não verificaram efeito sobre a concentração de C18:0, e Ramaswamy et al. (2001) verificaram aumento de 22,2% (7,96 vs 9,73) na concentração deste ácido graxo quando compararam dietas sem adição de óleo ou com 2% de óleo de soja, respectivamente.

Estas respostas permitem concluir que quando se trata de dietas contendo óleo de peixe, a redução na concentração de C18:0 é a maior responsável pelo decréscimo na concentração de ácidos graxos saturados no leite. Entretanto, isto não se repete em dietas contendo óleo de soja, cuja diminuição em conjunto na concentração dos ácidos graxos C6:0, C8:0, C10:0, C12:0, C14:0 e C16:0 determina a menor saturação da gordura do leite (RAMASWAMY et al., 2001).

A redução na concentração de C18:0 no leite em resposta à utilização de óleo de peixe é reflexo do seu grande poder inibitório do passo final de biohidrogenação dos ácidos graxos no rúmen. Kepler, Tucker e Tove (1970) já haviam mencionado que altas concentrações de ácido linoleico ou outros ácidos graxos insaturados inibiam a biohidrogenação do ácido vacênico C18:1 *trans*-11 para C18:0. Com base nos dados apresentados anteriormente em relação ao maior decréscimo na concentração de C18:0 em dietas com óleo de peixe em comparação ao óleo de soja (ABUGHAZALEH et al., 2002; RAMASWAMY et al., 2001; WHITLOCK et al., 2002) pode-se afirmar que o óleo de peixe é o que exerce maior efeito inibitório do passo final de biohidrogenação ruminal (SHINGFIELD et al., 2003). Esta hipótese é fortalecida pelo fato do óleo de peixe promover maior acúmulo de intermediários da biohidrogenação (C18:1 *trans*) que os óleos de fontes vegetais (CHILLIARD; FERLAY, 2004). AbuGhazaleh e Jenkins (2004) demonstraram que o ácido docosahexaenóico (C22:6 n-3) é o componente do óleo de peixe responsável por esta inibição.

O ácido vacênico (*trans*-11 C18:1) pode ser convertido em CLA (C18:2 *cis*-9, *trans*-11 C18:2) pela enzima Δ^9 -dessaturase, e tanto bovinos quanto humanos são capazes de sintetizar CLA a partir do ácido vacênico. Estimativas da quantidade total de CLA do leite que é sintetizado de maneira endógena variam de 64 a 93% (GRIINARI et al., 2000; PIPEROVA et al., 2002). Muitos trabalhos têm tentado manipular a concentração de ácido vacênico e CLA do leite por meio do fornecimento de fontes de gordura suplementar e alguns resultados a esse respeito serão apresentados.

Donovan et al. (2000) verificaram aumento quadrático na concentração de ácido vacênico (1,21; 3,07; 6,08 e 4,69 g/100 g de ácidos graxos) em resposta aos teores 0, 1, 2 e 3% de óleo de peixe na dieta, respectivamente, concluindo que o melhor teor a ser utilizado é 2% (% MS). Trabalhos posteriores confirmaram a hipótese de que o óleo de

peixe favorece o acúmulo de ácido vacênico no leite. As taxas de aumento na concentração deste ácido graxo com a utilização do óleo de peixe em relação a dietas sem adição de gordura variam de 129 a 374% (ABUGHAZALEH et al., 2002; BRARATHAN et al., 2008; RAMASWAMY et al., 2001; TORAL et al., 2010; WHITLOCK et al., 2002).

Nas comparações de dietas contendo óleo de peixe vs dietas com óleo de soja, ambas com 2% de óleo (% MS), o óleo de peixe propiciou maior concentração de ácido vacênico em 3 trabalhos (ALMEIDA, 2008; RAMASWAMY et al., 2001; WHITLOCK et al., 2002), e não diferiu do óleo de soja em 1 trabalho (ABUGHAZALEH et al., 2002). Isto reforça a ideia de que o DHA presente no óleo de peixe é o maior responsável pela inibição do passo final de biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos (ABUGHAZALEH; JENKIS, 2004).

Com relação ao CLA *cis*-9, *trans*-11, a utilização do óleo de peixe também tem se mostrado eficiente em aumentar sua concentração no leite (DONOVAN et al., 2000). Em comparação ao óleo de soja, Ramaswamy et al. (2001) e Whitlock et al. (2002) verificaram benefício para o uso de óleo de peixe.

Mesmo o óleo de peixe sendo reconhecidamente um potente inibidor do passo final de biohidrogenação dos ácidos graxos no rúmen, ele apresenta baixo conteúdo de ácido linoleico que é precursor de CLA e ácido vacênico. Diante disso, alguns autores avaliaram a hipótese de que possa haver sinergismo do fornecimento do óleo de peixe e soja misturados em relação ao fornecimento destas fontes separadamente. Ramaswamy et al. (2001) e Whitlock et al. (2002) observaram benefício adicional da associação do óleo de peixe ao óleo de soja apenas quando comparada ao óleo de soja, mas em relação ao óleo de peixe os valores não mostraram vantagem do uso dos óleos misturados. Whitlock et al. (2006) forneceram teores crescentes de óleo de peixe (0 - controle; 0,33; 0,67 e 1,0%) misturado ao óleo de soja de modo a comporem 2,0% da dieta (% MS), e como esperado, houve aumento na concentração de CLA com a utilização das fontes de óleo (contraste, controle vs dietas com óleo). Entretanto, não houve efeito dos teores crescentes de óleo de peixe sobre esta variável. Em conjunto, estes dados não mostraram benefício adicional do uso de óleo de peixe associado ao óleo de soja em comparação ao óleo de peixe.

Devido ao potencial benefício à saúde humana (LARSSON et al., 2004), aumentar a concentração dos ácidos graxos EPA e DHA no leite tem sido objetivo de muitas pesquisas. Normalmente, as dietas de ruminantes não apresentam estes ácidos graxos em sua composição, e quando os possui encontram-se em níveis muito baixos (LOCK; BAUMAN, 2004). Entretanto, o óleo de peixe, co-produtos de peixe e algas marinhas são fontes ricas nestes ácidos graxos, as quais vem sendo adicionados a dieta de ruminantes como fontes de EPA e DHA.

Em todos os trabalhos revisados a suplementação com óleo de peixe resultou em aumento na concentração de EPA ou DHA no leite (ABUGHAZALEH et al., 2002; PALMQUIST; GRIINARI, 2006; RAMASWAMY et al., 2001; SHINGFIELD et al., 2003, 2006; TORAL et al., 2010; WHITLOCK et al., 2002, 2006). Em termos de concentração (g/100 g de ácidos graxos totais) de EPA e DHA no leite, respectivamente, os máximos valores observados, nas melhores estratégias alimentares, foram: 0,39 e 0,15 (RAMASWAMY et al., 2001); 0,26 e 0,19 (WHITLOCK et al., 2002); 0,24 e 0,26 (ABUGHAZALEH et al., 2002); 0,11 e 0,10 (SHINGFIELD et al., 2003); 0,10 e 0,09 (WHITLOCK et al., 2006); 0,11 e 0,07 (SHINGFIELD et al., 2006); 0,15 e 0,38 (TORAL et al., 2010).

Tipicamente, a concentração de EPA e DHA em produtos de ruminantes alimentados com dietas não adicionadas com óleo é menor que 0,1% do total de ácidos graxos (SHINGFIELD et al., 2006; TORAL et al., 2010; WHITLOCK et al., 2006). Portanto, pode-se dizer que as estratégias alimentares desenvolvidas nos últimos anos foram bem sucedidas quanto à possibilidade de aumentar a concentração destes componentes funcionais nos produtos alimentares. Entretanto, é importante mencionar que a eficiência de transferência de EPA e DHA da dieta para o leite é muito baixa.

Alguns autores comprovaram por meio da infusão de EPA e DHA no rúmen ou no pós-rúmen que a alta taxa de biohidrogenação ruminal destes ácidos graxos é o principal fator que explica suas baixas eficiências de transferência para o leite. Lock e Bauman (2004) sumarizaram dados de artigos que infundiram óleo de peixe no rúmen, e verificaram que em média a eficiência de transferência do EPA foi de 1,85% e do DHA de 2,98%, já quando o óleo de peixe foi infundido no pós-rúmen a eficiência de transferência foi de 29,3% para o EPA e de 25,5% para o DHA (CHILLIARD; DOREAU, 1997). Loo et

al. (2005) observaram o mesmo padrão de resposta, para o EPA, eficiência de transferência de 2,0 ou 14,3% e para o DHA de 3,0 ou 13,3% quando infundidos no rúmen ou no duodeno, respectivamente.

A eficiência de transferência do EPA (14, 5 ou 4%) e DHA (7, 6 ou 3%) decresceu linearmente em resposta ao aumento no consumo de EPA (10,8; 33,5 ou 48,1 g/dia) e DHA (5,7; 25,3 ou 42,6 g/dia), respectivamente (DONOVAN et al., 2000). Isto indica que as taxas de transferência destes ácidos graxos da dieta para o leite diminuem com o aumento no consumo. Esta resposta pode estar relacionada ao rendimento de gordura do leite, que reduz com o aumento no consumo de óleo de peixe (DONOVAN et al., 2000). Entretanto, as taxas de transferência dos ácidos graxos linoleico e linolênico também decrescem conforme o consumo aumenta, mesmo não havendo efeito sobre o rendimento de gordura do leite (CHILLIARD et al., 2000). Com isso, Looor et al. (2005) sugeriram que a taxa de transferência dos ácidos graxos poliinsaturados consumidos para o leite diminui quando a máxima capacidade das células mamárias de sintetizar triglicerídeos insaturados é atingida.

Devido aos aumentos nas taxas de transferência dos ácidos graxos insaturados consumidos para o leite quando estes são infundidos no pós-rúmen (LOOR et al., 2005), o uso de sais de Ca de ácidos graxos tem sido avaliado quanto à possibilidade de reduzir a biohidrogenação ruminal e aumentar a transferência dos ácidos graxos consumidos para o leite. Castañeda-Gutiérrez et al. (2007) forneceram ~8 g/dia de EPA e ~10,5 g/dia de DHA na forma de sais de Ca e ~16 g/dia de EPA e ~21 g/dia de DHA como sais de Ca ou na forma livre infundido no rúmen ou no abomaso, as taxas de transferência para o EPA (4,38; 3,08; 1,86 e 21,27; respectivamente) e DHA (6,0; 4,36; 3,30 e 18,90) não diferiu entre as formas de fornecimento no rúmen como sais de cálcio ou na forma não “protegida”, havendo apenas aumento nas taxas de transferência quando os ácidos graxos foram infundidos no abomaso. Isto mostra que os sais de Ca de ácidos graxos são extensivamente biohidrogenados no rúmen, de acordo com Palmquist (2006) esta tecnologia não foi desenvolvida para proteger os ácidos graxos da biohidrogenação ruminal, mas para tornar os ácidos graxos inertes com respeito aos seus efeitos sobre os microrganismos ruminais.

2.5 Consumo, metabolismo ruminal e digestibilidade dos nutrientes por animais alimentados com dietas contendo óleo de peixe e óleo de soja como fontes de gordura suplementares

Ao se tratar do fornecimento de óleo de peixe, um assunto recorrente é seu efeito depressor sobre o CMS. De maneira consistente a utilização do óleo de peixe como fonte exclusiva de gordura suplementar reduz o CMS (ABUGHAZALEH et al., 2002; DONOVAN et al., 2000; WHITLOCK et al., 2002). O fornecimento de 0,0; 1,0; 2,0 e 3,0% de óleo de peixe (% da MS) resultou em resposta quadrática no CMS com o maior valor sendo verificado na inclusão de 1,0% óleo de peixe, seguido de acentuado decréscimo no consumo com as inclusões de 2,0 e 3,0% (DONOVAN et al., 2000). Estes resultados indicaram boa possibilidade de uso do óleo de peixe em até 1,0% da dieta (% MS) sem prejuízos ao CMS e ao desempenho animal.

Com o objetivo de utilizar o óleo de peixe sem comprometer o desempenho animal, este tem sido utilizado em menores quantidades associado a outras fontes lipídicas. Coerente com esta ideia, as inclusões de 0,0; 0,33; 0,67 e 1,0% de óleo de peixe misturado a 2,0; 1,67; 1,33 e 1,0% de óleo de soja, respectivamente não afetaram o CMS (WHITLOCK et al., 2006). O fornecimento da mistura de 1,0% de óleo de peixe com 3,0% de óleo de canola ou 3,0% de óleo de milho também não afetou o consumo quando comparado as dietas contendo 4,0% de óleo de milho ou 4,0% de óleo de canola (DUCKETT; GILLIS, 2010). Entretanto, redução no consumo foi reportada quando 1,0% de óleo de peixe foi fornecido misturado a 1,0% de óleo de soja (ABUGHAZALEH et al., 2002; WHITLOCK et al., 2002;).

Em três trabalhos revisados o fornecimento de óleo de peixe misturado ao óleo de girassol resultou em decréscimo no CMS (PALMQUIST; GRIINARI, 2006; SHINGFIELD et al., 2006; TORAL et al., 2010). Shingfield et al. (2006) observaram redução de 20,5% no consumo em resposta ao fornecimento de uma mistura de 15g de óleo de peixe com 30g de óleo de girassol por kg de matéria natural. A suplementação com 10g de óleo de peixe misturado a 20g de óleo de girassol também resultou em diminuição no CMS (TORAL et al., 2010). Estes resultados estão de acordo com a redução linear no CMS com a inclusão

de teores crescentes de óleo de peixe na dieta (0,0; 0,33; 0,67 e 1,0%) associado ao óleo de girassol, de modo a perfazerem juntos 3,0% da MS (PALMQUIST; GRIINARI, 2006).

Quando o óleo de peixe foi comparado ao óleo de soja, ambos compondo 2,0% da matéria seca da dieta, menor consumo foi verificado pelos animais alimentados com óleo de peixe (WHITLOCK et al., 2002). Mostrando que o óleo de peixe apresenta maior efeito depressor do consumo que o óleo de soja.

Provavelmente as alterações que os ácidos graxos poliinsaturados do óleo de peixe causa sobre a população microbiana ruminal explique em parte seu efeito sobre o CMS. Kitessa et al. (2001) verificaram redução de 49,8% no CMS quando incluíram 3,0% de óleo de peixe na forma não protegida na dieta, entretanto quando a mesma quantidade foi incluída na forma protegida não houve efeito sobre o consumo. De maneira semelhante à infusão ruminal de 300 mL/dia de óleo de peixe diminuiu em 18,2% o CMS por vacas em lactação, mas quando a mesma quantidade foi infundida no duodeno não houve prejuízos ao consumo (LOOR et al., 2005). A infusão ruminal de óleo de peixe para suprir ~16 g/dia de EPA e ~21 g/dia de DHA também resultou em menor CMS quando comparada a mesma quantidade infundida no abomaso (CASTAÑEDA-GUTIÉRREZ et al., 2007).

Com relação ao uso do óleo de soja, Whitlock et al. (2002) observaram CMS de 24,3 e 24,5 kg/dia e Abughazaleh et al. (2002) de 23,0 e 22,7 kg/dia ao avaliarem o fornecimento para vacas leiteiras de uma dieta controle ou adicionada com 2,0% de óleo de soja, respectivamente. Também com vacas em lactação a adição de 3,0% de óleo de soja na dieta não afetou o CMS (FREITAS Jr et al., 2010; LOOR; HERBEIN, 2003). Quando avaliado em alta inclusão na dieta de ovelhas (6,0% da MS) o óleo de soja também não afetou o CMS (2,33 vs 2,07 kg/dia, respectivamente) (GÓMEZ-CORTÉS et al., 2008). Para cabras em lactação o fornecimento de uma dieta controle ou contendo 2,0% de óleo de soja não afetou o CMS (1,77 e 1,82 kg/dia, respectivamente) (ALMEIDA, 2008), o que é coerente com os resultados obtidos por Maia et al. (2006) que incluíram 5,1% de óleo de soja na dieta de cabras e de maneira similar não verificaram diferença no consumo quando compararam a uma dieta sem adição de óleo (2,08 vs 1,99 kg/dia, respectivamente).

Entre os trabalhos revisados, em apenas 2 verificou-se redução no CMS em resposta a suplementação com óleo de soja, ou com a utilização de grão de soja (EIFERT

et al., 2006; URANO et al., 2006). O CMS reduziu de 19,0 para 17,8 kg/dia na comparação entre uma dieta controle e outra adicionada com 2,25% de óleo de soja para vacas em lactação, respectivamente (EIFERT et al., 2006). Por sua vez URANO et al. (2006), verificaram redução linear no CMS (1,1; 1,0; 0,9 e 0,9 kg/dia) com a inclusão de 0; 7,0; 14,0 e 21,0% de grão de soja na dieta.

Em termos gerais, as hipóteses que tentam explicar o efeito negativo que o fornecimento de fontes de óleo ricas em ácidos graxos poliinsaturados causam sobre o CMS, envolvem decréscimo na digestibilidade ruminal da fibra (JENKINS; JENNY, 1989), aumento no suprimento energético e em se tratando do fornecimento de óleo de peixe sua baixa palatabilidade. Diante disso, foram revisados alguns trabalhos que avaliaram o fornecimento do óleo de peixe ou de soja com respeito aos seus efeitos sobre as características de fermentação ruminal e a digestibilidade das frações bromatológicas da dieta.

O fornecimento de teores crescentes de óleo de peixe (0; 0,33; 0,67 e 1,0% de óleo de peixe com balanço completado para 3,0 de óleo na matéria seca com óleo de girassol) resultou em alterações no padrão de fermentação ruminal, com decréscimo na concentração de ácido acético (652; 441; 622 e 534 mmol/L) e aumento na concentração de ácido butírico na dieta com 0,33% de óleo de peixe (304 mmol/mol) em comparação as dietas contendo 0 (115 mmol/mol) e 0,67% de óleo de peixe (142 mmol/mol), observaram-se resposta quadrática na concentração de propionato (192; 173; 174 e 227 mmol/mol, respectivamente) e de AGCC totais (133; 74,7; 73,8 e 108 mmols/L), o pH ruminal não foi afetado (PALMQUIST; GRIINARI, 2006).

Redução linear na concentração ruminal de acetato (58,9; 57,8 e 57,1 mmol/L) e aumento linear na concentração de isovalerato (1,93; 2,22 e 2,57 mmol/L) foi verificado com a inclusão de 0, 1 ou 3% de óleo de peixe (% MS), respectivamente, as concentrações de propionato, butirato, AGCC totais e o pH ruminal não foram afetados pelos tratamentos (KIM et al., 2008). O fornecimento de uma dieta controle, ou adicionada com uma mistura de 10g de óleo de peixe + 20g de óleo de girassol/kg de matéria natural da dieta por 3 ou 10 dias, resultou em decréscimo na concentração ruminal de acetato (87,8; 73,5 e 73,9 mmol/L), butirato (21,2; 17,4 e 17,9, respectivamente) e AGCC totais

($P=0,098$) (139,0; 120,8 e 123,4 mmol/L, respectivamente). Entretanto, a concentração de propionato, ácido láctico, amônia e pH ruminal não foi afetada (TORAL et al., 2009).

Entretanto, os efeitos do óleo de peixe sobre as características de fermentação ruminal não tem se repetido de maneira consistente, como exemplo, a inclusão de 10g de óleo de peixe ou de 10g de óleo de peixe + 20g de óleo de girassol/kg de matéria natural não afetou a concentração ruminal de acetato, propionato, butirato, ácidos graxos de cadeia curta totais, NH_3 ou pH ruminal (TORAL et al., 2010). Para os mesmos parâmetros também não houve efeito da adição de 0,5% de óleo de peixe na dieta de vacas em lactação (BHARATHAN et al., 2008). De modo semelhante, Keady e Mayne (1999) formularam concentrados para fornecer 0, 150, 300 ou 450 g/dia de óleo de peixe para vacas em lactação e não verificaram efeito sobre os parâmetros mencionados.

Quanto ao óleo de soja, sua inclusão na dieta em 0; 3,2; 6,3 ou 9,4% (% MS) não afetou a concentração de acetato, propionato, butirato e o pH ruminal, mas aumentou de maneira linear a concentração de valerato (0,89; 0,91; 1,03 e 1,14 mmol/L) com efeito cúbico sobre a concentração de AGCC totais (77,3; 71,7; 86,9 e 59,0 mmol/100 mol).

A respeito do efeito da utilização do óleo de peixe sobre a digestibilidade das frações bromatológicas Kitessa et al. (2001) avaliaram dietas contendo 60% de feno de leucena e 40% de grãos de aveia (controle), ou adicionada com 3,0% de óleo de peixe na forma não protegido ou protegido para ovinos, e não observaram efeito sobre a digestibilidade da matéria seca. A inclusão de 1,0% de óleo de peixe na dieta de bovinos em terminação também não afetou a digestibilidade aparente da matéria seca (DUCKETT; GILLIS, 2010). Coerente com estas respostas, a incubação feno de alfafa por 12 ou 24 h no rúmen de ovelhas alimentadas sem adição de óleo, ou adicionada com uma mistura de 10g de óleo de peixe + 20g de óleo de girassol/kg de matéria natural por 3 ou 10 dias não resultou em alteração nas taxas de degradabilidade da matéria seca, proteína bruta ou fibra em detergente neutro (TORAL et al., 2009). Similar resultado foi reportado por Keady e Mayne (1999). Diante destas respostas a hipótese de que a redução no CMS em dietas contendo óleo de peixe ocorre devido ao seu efeito negativo sobre a digestibilidade da fibra não é a mais plausível.

Referências

ABUGHAZALEH, A.A. Effect of fish oil and sunflower oil supplementation on milk conjugated linoleic acid content for grazing dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 141, n. 3, p. 220-232, 2008.

ABUGHAZALEH, A.A.; JENKINS, T.C. Disappearance of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids from cultures of mixed ruminal microorganisms. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 3, p. 645-651, 2004.

ABUGHAZALEH, A.A.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; WHITLOCK, L.A. Fatty acid profiles of milk and rumen digesta from cows fed fish oil, extruded soybeans or their blend. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 9, p. 2266-2276, 2002.

ADOLF, R.O.; DUVAL, S.; EMKEN, E.A. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in humans. **Lipids**, Champaign, v. 35, n. 2, p. 131-135, 2000.

ALMEIDA, O.C. de. **Concentração arterial, retenção de metabólitos pela glândula mamária e concentração de CLA arterial e no leite de cabras, em resposta à ingestão de fontes de ácidos graxos poliinsaturados ou doses crescentes de óleo de soja**. 2008. 153 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

ANNETT, R.W.; DAWSON, L.E.R.; EDGAR, H.; CARSON, A.F. Effects of source and level of fish oil supplementation in late pregnancy on feed intake, colostrums production and lamb output of ewes. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 154, n. 3, p. 169-182, 2009.

BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A.; GRIINARI, J.M. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. **Proceedings of the American Society of Animal Science**, Albany, v. 77, p. 1-15, 1999.

BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A.; DWYER, D.A.; SAEBØ, A.; BAUMAN, D.E. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 278, n. 11, p.179-184, 2000.

BAUMGARD, L.H.; MATITASHVILI, E.; CORL, B.A.; DWYER, D.A.; BAUMAN, D.E. *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**, Champaign, v. 85, n. 9, p. 2155-2163, 2002.

BHARATHAN, M.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; GIBSON, M.L.; KARGES, K. Conjugated linoleic acid increases in milk from cows fed condensed

corn distillers soluble and fish oil. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 7, p. 2796-2807, 2008.

BOUATTOUR, R.; CASALS, R.; ALBANELL, E.; SUCH, X.; CAJA, G. Feeding soybean oil to dairy goats increases conjugated linoleic acid in milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 6, p. 2399-2407, 2008.

CASTAÑEDA-GUTIÉRREZ, E.; VETH, M.J. de.; LOCK, A.L.; DWYER, D.A.; MURPHY, K.D.; BAUMAN, D.E. Effect of supplementation with calcium salts of fish oil on n-3 fatty acids in milk fat. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 9, p. 4149-4156, 2007.

CHALUPA, W.; KUTCHES, A. J. Biohydrogenation of linoleic – 1 – ^{14}C acid by rumen protozoa. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 27, n. 5, p. 1502-1508, 1968.

CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. Effects of ruminal or postruminal fish oil supply on cow milk yield and composition. **Reproduction, Nutrition, Development**, Paris, v. 37, n. 3, p. 338-339, 1997. Abstract.

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. **Reproduction, Nutrition, Development**, Paris, v. 44, n. 5, p. 467-492, 2004.

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

CHOUINARD, P.Y.; CORNEAU, L.; BARBANO, D.M.; METZGER, L.E.; BAUMAN, D.E. Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 129, n. 8, p. 1579-1584, 1999.

DONOVAN, D.C.; SCHINGOETHE, D.J.; BAER, R.J.; RYALI, J.; HIPPEN, A.R.; FRANKLING, S.T. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in Milk fat from lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 11, p. 2620-2628, 2000.

DUCKETT, S.K.; GILLIS, M.H. Effects of oil and fish oil addition on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 8, p. 2684-2691, 2010.

EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LANNA, D.P.D.; L, W.M.; OLIVEIRA, M.V.M.; ARCURI, P.B.; CAMPOS, J.M.S.C.; LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C. Consumo, produção e composição do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e diferentes fontes de carboidratos na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 211-218, 2006.

FREITAS Jr., J.E. de; RENNÓ, F.P.; SANTOS, M.V. dos.; GANDRA, J.R.; MATURANA FILHO, M.; VENTURELLI, B.C. Productive performance and composition of milk protein

fraction in dairy cows supplemented with fat sources. **Brazilian Journal of Animal Science**, Champaign, v. 39, n. 4, p. 845-852, 2010.

GERVAIS, R.; CHOUINARD, P.Y. Effects of intravenous infusion of conjugated diene 18:3 isomers on milk fat synthesis in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 9, p. 3568-3578, 2008.

GERVAIS, R.; McFADDEN, J.W.; LENGI, A.J.; CORL, B.A.; CHOUINARD, P.Y. Effects of intravenous infusion of *trans*-10, *cis*-12 on mammary lipid metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 10, p. 5167-5177, 2009.

GÓMEZ-CORTÉS, P.; FRUTOS, P.; MANTECÓN, A.R.; JUÁREZ, M.; FUENTE, M.A.F.; HERVÁS, G. Milk production, conjugated linoleic acid content, and in vitro ruminal fermentation in response to high levels of soybean oil in dairy ewe diet. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 4, p. 1560-1569, 2008.

GRIINARI, J.M.; CHOUINARD, P.Y.; BAUMAN, D.E. *Trans* fatty acid hypothesis of milk fat depression revised. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FEED MANUFACTURES, 1997, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca, 1997. p. 208-216.

GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H.; CHOUINARD, P.Y.; NURMELA, K.V.V.; BAUMAN, D.E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by δ^9 -desaturase. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, n. 9, p. 2285-2291, 2000.

GRIINARI, J.M.; DWYER, D.A.; McGUIRE, M.A.; BAUMAN, D.E.; PALMQUIST, D.L.; NURMELA, K.V.V. *Trans*-octadecenoic acids and milk fat depression. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n.5, p. 1251-1261, 1998.

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

HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P.N. **The rumen microbial ecosystem**. London: Elsevier Applied Science, 1988. Chap. 9, p. 285-322.

HUANG, Y.; SCHOONMAKER, J.P.; BRADFORD, B.J.; BEITZ, D.C. Response of milk fatty acid composition to dietary supplementation of soy oil, conjugated linoleic acid, or both. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 1, p. 260-270, 2008.

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

JENKINS, T.C.; JENNY, B.F. Effect of hydrogenated fat on feed intake, nutrient digestion, and lactation performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, n. 9, p. 2316-2324, 1989.

JENSEN, R.G. The composition of bovine milk lipids. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 2, p. 295-350, 2002.

KALSCHEUR, B.B.; TETER, B.B.; PIPEROVA, L.S.; ERDMAN, R.A. Effect of fat source on duodenal flow of *trans*-C18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 9, p. 2115-2126, 1997a.

_____. Effect of dietary forage concentration and buffer addition on duodenal flow of *trans*-C_{18:1} fatty acids and milk fat production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 9, p. 2104-2114, 1997b.

KEADY, T.W.J.; MAYNE, C.S. The effects of level of fish oil inclusion in the diet on rumen digestion and fermentation parameters in cattle offered grass silage based diets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 81, n. 1, p. 57-68, 1999.

KEPLER, C.R.; TUCKER, W.P.; TOVE, S.B. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. IV. Substrate specificity and inhibition of linoleate Δ^{12} -*cis*, Δ^{11} -*trans* isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 245, n. 14, p. 3612-3620, 1970.

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

KIM, E.J.; HUWS, S.A.; LEE, M.R.F.; WOOD, J.D.; MUETZEL, S.M.; WALLACE, R.J.; SCOLLAN, N.D. Fish oil increases the duodenal flow of long chain polyunsaturated fatty acids and *trans*-11 18:1 and decreases 18:0 in steers via changes in the rumen bacterial community. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 138, n. 5, p. 889-896, 2008.

KITESSA, S.M.; GULATI, S.K.; ASHES, J.R.; FLECK, E.; SCOTT, T.W.; NICHOLS. Utilisation of fish oil in ruminants I. Fish oil metabolism in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 89, n. 3, p. 189-199, 2001.

LARSSON, S.; KUMLIN, M.; INGELMEN-SUNDBERG, M.; WOLK, A. Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 79, n. 6, p. 1935-1945, 2004.

LOCK, A.L.; BAUMAN, D.E. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. **Lipids**, Champaign, v. 39, n. 12, p. 1197-1206, 2004.

LOCK, A.L.; ROVAI, M.; GIPSON, T.A.; VETH, M.J. de; BAUMAN, D.E. A conjugated linoleic acid supplement containing *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid reduces milk fat synthesis in lactating goats. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 9, p. 3291-3299, 2008.

LOCK, A.L.; TELES, B.M.; PERFIELD, J.W.; BAUMAN, D.E.; SINCLAIR, L.A. A conjugated linoleic acid supplement containing *trans*-10, *cis*-12 reduces milk fat synthesis in lactating sheep. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 5, p. 1525-1532, 2006.

LOOR, J.J.; HERBEIN, J.H. Dietary canola or soybean oil with two levels of conjugated linoleic acids (CLA) alter profiles of 18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat from dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 103, n. 1, p. 63-83, 2003.

_____. Exogenous conjugated linoleic acid isomers reduce bovine milk fat concentration and yield by inhibiting de novo fatty acid synthesis, Philadelphia, **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 12, p. 2411-2419, 1998

LOOR, J.J.; DOREAU, M.; CHARDIGNY, J.M.; OLLIER, A.; SEBEDIO, J.L.; CHILLIARD, Y. Effects of ruminal or duodenal supply of fish oil on milk fat secretion and profiles of *trans*-fatty acids and conjugated linoleic acid isomers in dairy cows fed maize silage. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 119, n. 3, p. 227-246, 2005.

MAIA, F.J.; BRANCO, A.F.; MOURO, G.F.; MARCANTONIO, C.; SANTOS, G.T. dos; MINELLA, T.F.; MACEDO, F.A.F. Inclusão de fontes de óleo na dieta de cabras em lactação: digestibilidade dos nutrientes e parâmetros ruminais e sanguíneos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 4, p. 1496-1503, 2006.

MOSLEY, E.E.; SHAFFI, B.; MOATE, P.J.; MCGUIRE, M.A. *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid is synthesized directly from vaccenic acid in lactating dairy cattle. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 136, n. 3, p. 570-575, 2006.

OR-RASHID, M.M.; FISHER, R.; KARROW, N.; ALZAHAL, O.; MCBRIDE, B.W. Fatty acid profile of colostrums and milk of ewes supplemented with fish meal and the subsequent plasma fatty acid status of their lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 6, p. 2092-2102, 2010.

PALMQUIST, D.L. Milk fat: origin of fatty acids and influence of nutritional factors thereon. In: FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.C. (Ed.). **Advanced dairy chemistry**. 3rd ed. New York: Springer, 2006. v. 2: Lipids, p. 43-92.

PALMQUIST, D.L.; GRIINARI, J.M. Milk fatty acid composition in response to reciprocal combination of sunflower and fish oils in the diet. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 131, n. 3, p. 358-369, 2006.

PALMQUIST, D.L.; MATTOS, W. Turnover of lipoproteins and transfer to milk fat of dietary (1-carbon-14) linoleic acid in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 61, n. 5, p. 561-565, 1978.

PARODI, P.W. Cows milk fat components as potential anticarcinogenic agents. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 127, n. 6, p. 1055-2060, 1997.

PERFIELD, J.W.; LOCK, A.L.; GRIINARI, J.M.; SAEBØ, A.; DELMONTE, P.; DWYER, D.A.; BAUMAN, D.E. *Trans*-9, *cis*-11 conjugated linoleic acid reduces milk fat synthesis in

lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 5, p. 2211-2218, 2007.

PETERSON, D.G.; MATITASHVILI, E.A.; BAUMAN, D.E. Diet induced milk fat depression in dairy cows results in increased *trans*-10, *cis*-12 CLA in milk fat and coordinate suppression of mRNA abundance for mammary enzymes involved in milk fat synthesis. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 133, n. 10, p. 3098-3102, 2003.

PIPEROVA, L.S.; MOALLEM, U.; TETER, B.B.; SAMPUGNA, J.; YURAWECZ, M.P.; MOREHOUSE, K.M.; LUCHINI, D.; ERDMAN, R.A. Changes in milk fat in response to dietary supplementation with calcium salts of *trans*-18:1 or conjugated linoleic fatty acids in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 11, p. 3836-3844, 2004.

PIPEROVA, L.S.; SAMPUGNA, J.; TETER, B.B.; KALSCHEUR, K.F.; YURAWECZ, M.P.; KU, Y.; MOREHOUSE, K.M.; ERDMAN, R.E. Duodenal and milk *trans* octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of *cis*-9 containing CLA in lactating cows. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 132, n. 6, p. 1235-1241, 2002.

PIPEROVA, L.S.; TETER, B.B.; BRUCKENTAL, I.; SAMPUGNA, J.; MILLS, S.E.; YURAWECZ, M.P.; FRITSCH, J.; KU, K.; ERDMAN, R.A. Mammary lipogenic enzyme activity, *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, n. 10, p. 2568-2574, 2000.

PULINA, G.; NUDDA, A.; BATTACONE, G.; CANNAS, A. Effects of nutrition on the contents of fat, protein, somatic cells, aromatic compounds, and undesirable substances in sheep milk. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 131, n. 3, p. 255-291, 2006.

RAMASWAMY, N.; BAER, R.J.; SHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KASPERSON, K.M.; WHITLOCK, L.A. Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 10, p. 2144-2151, 2001.

ROMO, G.A.; CASPER, D.P.; ERDMAN, R.A.; TETER, B.B. Abomasal infusion of *cis* or *trans* fatty acid isomers and energy metabolism of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, n. 11, p. 2005-2015, 1996.

SHINGFIELD, K.J.; AHVENJARVI, S.; TOIVONEN, V.; AROLA, A.; NURMELA, K.V.V.; HUHTANEN, P.; GRIINARI, J.M. Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. **Animal Science**, Penicuik, v. 77, n. 1, p. 165-179, 2003.

SHINGFIELD, K.J.; REYNOLDS, C.K.; HERVÁS, G.; GRIINARI, J.M. 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**, Champaign, v.89, n. 2, p. 714-732, 2006.

SIEBER, R.; COLLOMB, M.; AESCHIMANN, A.; JELEN, P.; EYER, H. Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products-a review. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 14, n. 1, p. 1-15, 2004.

SINCLAIR, L.A.; LOCK, A.L.; EARLY, R.; BAUMAN, D.E. Effects of *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid on ovine milk fat synthesis and cheese properties. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 7, p. 3326-3335, 2007.

STORRY, J.E.; TUCKLEY, B.; HALL, A.J. The effects of intravenous infusions of triglycerides on the secretion of milk fat in the cow. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 23, n. 1, p. 57, 1969.

SUSIN, I.; LOERCH, S.C.; McCLURE, K.E.; DAY, M.L. Effects of limit feeding a high-grain diet on puberty and reproductive performance of ewes. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 11, p. 3206-3215, 1995.

TORAL, P.G.; BELENGUER, A.; FRUTOS, P.; HERVÁS, G. Effect of the supplementation of a high-concentrate diet with sunflower and fish oils on ruminal fermentation in sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 81, n. 2, p. 119-125, 2009.

TORAL, P.G.; HERVÁS, G.; GÓMEZ-CORTÉS, P.; FRUTOS, P.; JUÁREZ, M.; FUENTE, M.A. de la. Milk fatty acid profile and dairy sheep performance in response to diet supplementation with sunflower oil plus incremental levels of marine algae. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 4, p. 1655-1667, 2010.

URANO, F.S.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; MENDES, C.Q.; RODRIQUES, G.H.; ARAUJO, R.C. de; MATTOS, W.R.S. Desempenho e características da carcaça de cordeiros confinados alimentados com grãos de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 10, p. 1525-1530, 2006.

WHITLOCK, L.A.; SCHINGOETHE, D.J.; ABUGHAZALEH, A.A.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F. Milk production and composition from cows fed small amounts of fish oil with extruded soybeans. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 10, p. 3972-3980, 2006.

WHITLOCK, L.A.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; BAER, R. J.; RAMASWAMY, N.; KASPERSON, K.M. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 1, p. 234-243, 2002.

3 PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE, E DESEMPENHO DAS CRIAS DE OVELHAS ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO ÓLEO DE PEIXE EM SUBSTITUIÇÃO PARCIAL AO ÓLEO DE SOJA

Resumo

Os objetivos deste experimento foram avaliar os efeitos do fornecimento de pequenos teores de óleo de peixe, em substituição parcial ao óleo de soja, sobre o consumo de matéria seca (CMS), a produção e perfil de ácidos graxos do leite de ovelhas e o desempenho das crias. Foram utilizadas 50 ovelhas da raça Santa Inês, com 63 ± 6 kg de peso corporal, distribuídas em delineamento experimental de blocos completos casualizados (10 blocos e 5 tratamentos). As dietas foram isonitrogenadas ($14,7 \pm 1,1$ de PB na MS). Os tratamentos consistiram de uma dieta controle (CONT) contendo 30% de volumoso e 70% de concentrado, sem adição de óleo; e 4 dietas adicionadas com 4,0% de óleo, consistindo de 0,0% (0P); 0,25% (25P); 0,50% (50P) e 0,75% (75P) de óleo de peixe, com o óleo de soja completando o teor de 4,0% de óleo adicionado (% da MS). Semanalmente, da segunda a oitava semana de lactação, as ovelhas foram separadas de suas crias, estimuladas com a injeção de 6 UI de ocitocina e ordenhadas mecanicamente para esvaziamento da glândula mamária. Após 3 horas, utilizando-se o mesmo procedimento, as ovelhas foram novamente ordenhadas para mensuração da produção de leite. O CMS foi maior para ovelhas alimentadas com a dieta controle em relação às dietas contendo óleo. Entretanto, os teores de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe não afetaram o CMS. Apesar disso, verificou-se aumento linear na produção de leite com a inclusão de óleo de peixe na dieta, o que provocou aumento linear no ganho médio diário de peso corporal (GMD) das crias. Não houve efeito dos tratamentos sobre o teor de gordura do leite. A concentração de proteína e de sólidos totais reduziu linearmente com a adição de óleo de peixe. A concentração de lactose do leite das ovelhas alimentadas com as dietas contendo óleo foi superior a das ovelhas que receberam a dieta controle. Os ácidos graxos esteárico, oleico, vacênico, linoleico, linolênico e o CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 apresentaram maiores concentrações no leite dos animais alimentados com a dieta contendo óleo de soja e com as três dietas contendo óleo de peixe em comparação à controle. A concentração de ácido vacênico, CLA C18:2 *trans*-10, *cis*-12, ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA) aumentou linearmente com os teores crescentes de inclusão de óleo de peixe nas dietas. As duas fontes de lipídios utilizadas melhoram a composição lipídica do leite. A adição de até 0,75% de óleo de peixe em substituição ao óleo de soja foi benéfica por aumentar a concentração de ácido vacênico e de ácidos graxos insaturados no leite, bem como por aumentar a produção de leite.

Palavras-chave: Ácidos graxos insaturados; CLA; Lipídios; Ovinos; Perfil de ácidos graxos

Abstract

The objectives of these experiments were to evaluate the effects of small amounts of fish oil supply in partial replacement of soybean oil on dry matter intake (DMI), lactation performance and milk fatty acid composition of ewes and also on performance of their lambs. Fifty Santa Inês ewes with 63 ± 6 kg of initial BW were penned individually and used in a randomized complete block design with 10 blocks and 5 treatments. All diets were isonitrogen (14.7 ± 1.1 % of CP on a DM basis). Treatments consisted of a control diet (CONT) with a 30:70 ratio of forage to concentrate (DM basis), and 4 diets with 4% added fat consisting of 0.0% (0FO), 0.25% (25FO), 0.50% (50FO) and 0.75% (75FO) fish oil with soybean oil providing the balance of 4% added fat. Once a week, from the second to the eighth week of lactation (weaning time), ewes were separated from their lambs, stimulated by a 6-IU i.v. oxytocin injection, and milked to empty the udder. After 3 h, milk production was obtained after the same procedure. DMI (kg/d; % of BW and g/kg of BW^{0.75}) was higher for ewes fed the control diets vs fat-supplemented. However, no effect was observed on dry matter intake when fish oil inclusion in the diets increased. Nevertheless, milk production increased linearly when fish oil replaced soybean oil. As a consequence, the preweaning ADG of lambs increased linearly. Milk fat concentration was similar for all diets. Protein milk and total solids concentrations decreased linearly when fish oil addition increased. Lactose milk concentration was higher for ewes fed the fat-supplemented diets vs the control. Stearic acid, oleic acid, vaccenic acid, linoleic acid, linolenic acid and CLA *cis*-9, *trans*-11 showed higher concentrations in milk of animals fed diets containing soybean oil and fish oil compared to the control diet. Vaccenic acid, CLA *trans*-10, *cis*-12, eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) increased linearly with fish oil inclusion. The replacement of soybean oil by fish oil improved milk lipids composition. The fish oil addition (up to 0.75%) with soybean oil is beneficial by increasing vaccenic and unsaturated fatty acids concentration, and to increase milk production.

Keywords: CLA; fatty acid profile; Lipids; Sheep; Unsaturated fatty acids

3.1 Introdução

Devido à atribuição de vários benefícios que os ácidos graxos apresentam à saúde (PARK, 2009), muitas estratégias têm sido utilizadas com objetivo de melhorar o perfil lipídico do leite de animais ruminantes. O fornecimento de fontes de gordura suplementar aos animais tem se mostrado uma boa alternativa para enriquecer a gordura do leite com ácidos graxos importantes à saúde, como o CLA e os ácidos graxos da família ômega 3 (*n*-3) (TORAL et al., 2010; WHITLOCK et al., 2006).

Entre os isômeros do CLA, o encontrado em maior concentração no leite de animais ruminantes e que apresenta maior atividade biológica é o C18:2 *cis*-9, *trans*-11. Este pode ser sintetizado no rúmen como um intermediário transitório do processo de biohidrogenação do ácido linoleico ou diretamente no tecido adiposo ou na glândula mamária a partir do ácido vacênico pela ação da enzima Δ^9 -dessaturase (BAUMAN et al., 1999). Entretanto, de 80% (MOSLEY et al., 2006) a 93% (PIPEROVA et al., 2002) do CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 presente no leite é de origem endógena. Desta forma o acúmulo de ácido vacênico no rúmen para posterior absorção é desejável.

Uma estratégia para aumentar a concentração ruminal de ácido vacênico é o fornecimento de óleo de peixe (BRARATHAN et al., 2008; TORAL et al., 2010). O ácido docosahexaenóico (DHA) do óleo de peixe é o maior responsável por inibir o último passo de biohidrogenação do ácido vacênico à ácido esteárico (ABUGHAZALEH; JENKIS, 2004).

É importante mencionar que além do DHA, altas concentrações de ácido linoleico e outros ácidos graxos insaturados também diminuem a biohidrogenação do ácido vacênico para esteárico. Whitlock et al. (2006) demonstraram que a inclusão de apenas 0,33% de óleo de peixe associado a 1,66% de óleo de soja foi suficiente para otimizar a síntese de CLA na glândula mamária sem prejuízos ao desempenho de vacas em lactação. Provavelmente, em dietas contendo maiores teores de ácido linoleico, inclusões de óleo de peixe menores que 0,33% (WHITLOCK et al., 2006) sejam capazes de otimizar a síntese de ácido vacênico e de CLA na glândula mamária sem afetar o desempenho animal.

Para testar esta hipótese, foram avaliados os efeitos de pequenas inclusões de óleo de peixe nas dietas, em substituição parcial ao óleo de soja, sobre o consumo de matéria seca (CMS), a produção e o perfil de ácidos graxos do leite e o desempenho das crias de ovelhas Santa Inês.

3.2 Material e Métodos

Este estudo foi conduzido entre os meses de Outubro a Dezembro de 2008, nas instalações do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) do

Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, localizada em Piracicaba-SP (22° 42' 24" S e 47° 37' 53" O), Brasil.

3.2.1 Animais e instalações experimentais

Cinquenta ovelhas da raça Santa Inês em lactação com $63,2 \pm 5,9$ kg de peso corporal inicial com sua (s) cria (s) foram alojadas em baias cobertas (1,3 m x 3,5 m) com piso de concreto, contendo cocho para fornecimento de ração, cocho para fornecimento de sal e bebedouro. Trinta e cinco ovelhas foram de parto duplo e quinze ovelhas foram de parto simples. Todos os cordeiros foram F1 (Dorper x Santa Inês), sendo 30 fêmeas e 35 machos, totalizando 65 cordeiros. No dia do parto, as ovelhas foram everminadas com 1,0% moxidectin (Cydectin, Fort Dodge Saúde Animal, Campinas, São Paulo, Brasil) na dosagem de 1 mL/50 kg de peso corporal (PC).

3.2.2 Delineamento experimental e tratamentos

Com $11,0 \pm 2,0$ dias em lactação todos os animais foram distribuídos em delineamento experimental de blocos completos casualizados com 10 blocos e 5 tratamentos. Os blocos foram definidos de acordo com a data do parto, tipo de parto (simples ou gemelar), sexo das crias e peso da ovelha.

Os tratamentos foram definidos pela adição de teores crescentes de óleo peixe (OP) em substituição ao óleo de soja (OS), de modo a perfazerem juntos 4% da dieta (% MS). Os óleos foram adicionados a uma dieta base, contendo 70% de concentrado e 30% de volumoso (bagaço de cana-de-açúcar *in natura*). Os tratamentos foram: CONT (controle) – sem adição de óleo; 0P – adição de 4,0% de óleo de soja; 25P – adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P – adição de 0,5% de óleo de peixe e 3,5% de óleo de soja e 75P – adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja. As dietas foram formuladas de acordo com as recomendações do National Research Council - NRC (2007). A proporção dos ingredientes e a composição química das dietas estão

apresentadas na Tabela 1. A composição de ácidos graxos do óleo de soja e óleo de peixe utilizado encontra-se na Tabela 2.

3.2.3 Manejo alimentar e colheita de dados

Após entrarem no experimento, todas as ovelhas foram alimentadas com a dieta controle durante uma semana. Este período serviu para adaptação dos animais à dieta basal e às instalações experimentais. Em seguida, teve início o período experimental, transcorrido entre o $18^{\circ} \pm 2,0$ dias de lactação e o $60^{\circ} \pm 2,0$ dias de lactação, perfazendo 7 semanas de colheita de dados.

O milho e a casca de soja foram grosseiramente moídos utilizando-se um moedor (Nogueira[®] DPM – 4, Itapira, Brasil) desprovido de peneira, e misturados ao farelo de soja, ureia, calcário, mistura mineral e a monensina sódica (Elanco do Brasil, São Paulo, Brasil) utilizando-se um misturador horizontal com capacidade para 500 kg (Lucato[®], Limeira, Brasil). A monensina sódica foi adicionada na proporção de 25 mg/kg de matéria natural. A mistura dos óleos aos ingredientes concentrados da dieta foi realizada no momento antes do fornecimento. O concentrado + óleo (s) e o bagaço de cana-de-açúcar *in natura* foram pesados separadamente em balança eletrônica de precisão de 1 g (Marte[®], LC 100, São Paulo, Brasil), misturados, e ofertados diariamente na forma de dieta total. Os animais tiveram acesso *ad libitum* à dieta e água fresca. A quantidade de ração ofertada foi definida com base na leitura de cocho realizada antes do fornecimento. As sobras foram mantidas em aproximadamente 10% da quantidade ofertada.

Uma vez por semana as sobras de cada unidade experimental foram pesadas, amostradas (10%) e compostas por tratamento. A cada partida de ração uma amostra foi colhida. As amostras foram conservadas a -20°C para posterior análise. Todas as ovelhas foram pesadas, por três dias consecutivos, sem jejum alimentar, no início e no fim do período experimental para cálculo da variação de peso corporal.

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais, % da MS

Item	Tratamentos ¹				
	CONT	0P	25P	50P	75P
Ingredientes					
Bagaço de cana-de-açúcar <i>in natura</i>	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0
Milho	45,1	40,1	40,1	40,1	40,1
Farelo de soja	12,9	13,8	13,8	13,8	13,8
Casca de soja	9,8	10,0	10,0	10,0	10,0
Ureia	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Calcário	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Mistura mineral ²	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Óleo de peixe	-	-	0,25	0,50	0,75
Óleo de soja	-	4,0	3,75	3,50	3,25
Composição química					
Matéria seca (% da MO)	75,5	75,8	75,8	75,8	75,8
Matéria orgânica	95,9	95,8	95,8	95,8	95,8
Proteína bruta	13,7	14,2	14,2	14,2	14,2
Extrato etéreo	2,9	6,7	6,7	6,7	6,7
Carboidrato não fibroso	34,5	29,6	29,6	29,6	29,6
Fibra em detergente neutro	44,8	45,3	45,3	45,3	45,3
Energia metabolizável, Mcal/kg de MS ³	2,6	2,8	2,8	2,8	2,8

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²Composição: 5,5% P; 22% Ca; 3,5% Mg; 2,2% S; 7,0% Na; 500 ppm Fe; 450 ppm Cu; 1550 ppm Zn; 20 ppm Se.

³Estimada usando o *Small Ruminant Nutrition System*, v. 1.8.6 (CANNAS et al., 2004).

⁴n.d. = não detectado.

Tabela 2 – Composição de ácidos graxos do óleo de soja e óleo de peixe

Ácidos graxos, g/100 g	Óleo de soja	Óleo de peixe
C12:0 (láurico)	n.d. ³	n.d.
C14:0 (mirístico)	0,08	1,31
C16:0 (palmítico)	11,32	12,07
C16:1 (palmitoleico)	n.d.	1,29
C18:0 (esteárico)	4,05	3,46
C18:1 <i>n</i> -9 (oleico)	23,38	21,96
C18:2 <i>n</i> -6 (linoleico)	54,79	47,55
C18:3 <i>n</i> -3 (linolênico)	4,90	5,19
C20:5 <i>n</i> -3 (EPA - eicosapentaenóico)	n.d.	2,86
C22:6 <i>n</i> -3 (DHA - docosahexaenóico)	n.d.	3,11
Saturados	15,64	17,55
PUFA ¹	60,98	59,06
MUFA ²	23,38	23,39
PUFA <i>n</i> -6	56,08	47,55
PUFA <i>n</i> -3	4,90	11,51

¹PUFA = ácidos graxos poliinsaturados.

²MUFA = ácidos graxos monoinsaturados.

³n.d. = não detectado.

Para mensuração da produção de leite, uma vez por semana as ovelhas foram separadas de suas crias e ordenhadas mecanicamente (Camp Agri, modelo GL300). A ejeção do leite foi estimulada pela aplicação intravenosa de 6 unidades internacionais (UI) de ocitocina (Univet, São Paulo, Brasil). Foram realizadas duas ordenhas consecutivas, às 10 e às 13 horas. A primeira ordenha serviu para esvaziar o úbere das ovelhas, e o leite obtido foi descartado. Na segunda ordenha o leite de cada animal foi pesado para quantificação da produção no intervalo de 3 horas, conforme descrito por Susin et al. (1995). Duas amostras de leite por ovelha (20 ml cada), foram colhidas semanalmente, uma das amostras foi conservada em bronopol Broad Spectrum Microtabs[®] II (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol, D & F Control Systems[®], Inc., Dublin, CA) e a outra armazenada a -20 °C.

Os cordeiros receberam concentrado inicial a partir do $25^{\circ} \pm 2,0$ dias de idade. Os ingredientes do concentrado inicial foram: 70,0% de milho; 23,8% de farelo de soja; 1,5% de calcário; 1,0% de misturara mineral e 3,7% de melaço de cana-de-açúcar. A composição química (% MS) do concentrado inicial apresentou 88,5% de MS; 18,6% de PB; 12,6% de FDN e 5,3 de MM. O alimento foi oferecido em alimentador privativo permitindo acesso apenas dos cordeiros. Para não terem acesso ao cocho das ovelhas, os cordeiros foram presos através de uma corda ao alimentador, o comprimento da corda permitiu livre acesso à água e à ovelha. Os cordeiros foram pesados semanalmente após jejum alimentar de 3 horas, no dia da pesagem, as sobras de ração inicial foram quantificadas para determinação do CMS pelos cordeiros.

3.2.4 Análises químicas e cálculos

As amostras das dietas ofertadas e das sobras foram moídas em moinho tipo Wiley (Marconi, Piracicaba, Brasil) com peneiras com crivos de 1,0 mm e analisadas para determinação da matéria seca (MS) por meio da secagem das amostras em estufa a 105 °C por 24 h, matéria mineral (MM) através da incineração das amostras em mufla a 550 °C por 4 h (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC, 1990), nitrogênio total utilizando um aparelho Leco FP528 (Leco Corporation, St. Joseph, MI), conforme a AOAC (1997) e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) conforme Van Soest, Robertson e Lewis (1991), utilizando α -amilase termoestável e sulfito de sódio, em um aparelho Ankom 200 (Ankom Tech. Corp., Fairport, NY). O teor de extrato etéreo foi determinado conforme a AOAC (1990).

As amostras de leite previamente conservadas em bronopol foram analisadas para quantificação de proteína, gordura, lactose e sólidos totais por infravermelho com um instrumento Bentley 2000 (Bentley Instruments, Chaska, MN; AOAC, 1990). A contagem de células somáticas (CCS) foi realizada por citometria de fluxo com um instrumento Somacount 300 (Bentley Instruments; AOAC, 1990).

3.2.5 Composição de ácidos graxos da gordura do leite

Os lipídios totais foram extraídos seguindo a metodologia descrita por Feng, Lock e Gansworthy (2004). Uma alíquota do extrato de lipídios foi metilada em duas etapas com 2 mL de 0,5M de metóxido de sódio (10 minutos a 50 °C), seguido da adição de HCL metanóico (10 minutos a 80 °C), conforme Kramer et al. (1997) e armazenada a -20 °C em frascos âmbar de 1,5 mL contendo nitrogênio para evitar possível oxidação.

Para a quantificação e determinação dos ácidos graxos foi utilizado um cromatógrafo Agilent Technologies 7890A, equipado com detector de ionização de chama (7683B); e coluna capilar de sílica fundida (J & W 112-88A7, Agilent Technologies), de 100 m de comprimento e 250 µm de diâmetro interno, contendo 0,20 µm de cianopropil policiloxano. A aquisição dos dados foi realizada por meio do software ChemStation (Agilent Technologies). O tempo total da corrida cromatográfica foi 87,5 minutos divididos em quatro rampas de aquecimento, conforme segue: 70 °C (1 min), 100 °C (5 °C/min; 2 min), 175 °C (10 °C/min; 40 min), 225 °C (5 °C/min) e 245 °C (20 °C/min; 20 min). O H₂ foi utilizado como gás de arraste numa vazão de 1,0 mL/min; a temperatura do injetor e do detector foi de 260 °C. O gás N₂ foi utilizado como *Makeup*, com fluxo de 30 mL/min. A opção *split* em uma relação de 50:1 foi utilizada. A identificação dos ácidos graxos das amostras foi realizada com base no tempo de retenção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos dos padrões. Utilizou-se um padrão de 37 compostos (Supelco mix C4 – C24/n. 18919), e padrões individuais para a identificação dos ácidos graxos C18:0, C18:2 *cis*-9, *trans*-11 e C18:2 *trans*-10, *cis*-12 (Nu-Chek Prep, Elysian, MN).

3.2.6 Parâmetros sanguíneos

3.2.6.1 Ácidos graxos não esterificados (AGNE)

Amostras de sangue foram colhidas da veia jugular, em tubos Vacutainer® com gel separador inerte para soro e ativador de coágulo. As colheitas foram realizadas na segunda, quarta, sexta e oitava semanas pós-parto. Após as colheitas, as amostras foram centrifugadas e em seguida retiradas duas alíquotas de soro sanguíneo de 1,5 mL cada,

que foram armazenadas em tubos Eppendorf® e conservadas a -20 °C, para posterior análise dos AGNE.

As concentrações de AGNE foram determinadas enzimaticamente utilizando-se “kits” comerciais (NEFA-C Wako Chemicals®, Richmond, Virginia, EUA), em triplicata, com auxílio de um leitor de microplacas Bio-Rad Modelo 3550 com leituras em 550 nm.

3.2.7 Análise estatística

Os dados de CMS, produção e composição do leite foram analisados como medidas repetidas no tempo usando o Procedimento MIXED do SAS (1999), de acordo com o modelo estatístico que segue: $Y = \mu + B_i + D_j + S_{ij} + T_k + (DT)_{jk} + E_{ijk}$, onde μ = média geral, B_i = efeito de bloco ($i = 1$ a 10), D_j = efeito de dieta ($j = 1$ a 5), S_{ij} = erro residual associado ao efeito do animal (bloco $\times$ dieta); T_k = efeito de semana em lactação ($k = 1$ a 7); $(DT)_{jk}$ = interação de dieta $\times$ semana em lactação, e E_{ijk} = erro residual. Bloco e animal foram incluídos como efeitos aleatórios. A matriz de covariância que melhor se ajustou ao conjunto de dados foi a “autoregressiva” (AR 1). As médias de cada tratamento foram obtidas utilizando o comando LSMEANS. Foram realizados dois contrastes previamente definidos: 1 – dieta controle (CONT) vs dieta contendo 4,0% de óleo de soja (OP); 2 – CONT vs dietas contendo óleo de peixe. Os efeitos dos teores de inclusão de óleo de peixe nas dietas em substituição ao óleo de soja foram avaliados por meio de polinômios ortogonais linear e quadrático. Os efeitos de semana e interação dieta vs semana foram definidos pelo teste F da análise de variância.

A composição de ácidos graxos do leite também foi analisada usando o procedimento “MIXED” do SAS (1999) de acordo com o modelo: $Y = \mu + B_i + D_j + E_{ij}$, em que μ = média geral, B_i = efeito de bloco ($i = 1$ a 10), D_j = efeito de dieta ($j = 1$ a 5), e E_{ij} = erro residual. Bloco foi incluído como efeito aleatório. As médias foram obtidas pelo comando LSMEANS. Os contrastes previamente descritos (dieta controle vs dieta contendo 4,0% de óleo de soja e controle vs dietas contendo óleo de peixe) foram realizados. Os efeitos dos teores de inclusão de óleo de peixe nas dietas em substituição ao óleo de soja foram avaliados por meio de polinômios ortogonais linear e quadrático. Os efeitos foram declarados significativos quando $P < 0,10$.

3.3 Resultados e discussão

Em função das fontes de óleo terem sido adicionadas em substituição ao milho, o teor de extrato etéreo das dietas aumentou de 2,9% (dieta controle) para 6,7% da MS (dietas contendo óleo). Consequentemente, as quatro dietas contendo óleo apresentaram maior concentração de energia metabolizável (EM) em relação a controle (2,8 vs 2,6 Mcal/kg de MS, respectivamente). A concentração dos principais ácidos graxos encontrados no óleo de soja está de acordo com o esperado (Tabela 2). Entretanto, o óleo de peixe apresentou elevada concentração de ácido linoleico (47,55 g/100 g de ácidos graxos) e baixas concentrações dos ácidos eicosapentaenóico (EPA) 2,86 g/100 g de ácidos graxos e docosahexaenóico (DHA) 3,11 g/100 g de ácidos graxos. Como base de comparação, Whitlock et al. (2006) encontraram valores de 1,17; 8,95 e 5,31 g/100 g de ácido graxo para o ácido linoleico, EPA e DHA, respectivamente. É importante deixar claro, que isso não causou prejuízos ao presente experimento, uma vez que o principal objetivo foi aumentar os conhecimentos sobre os efeitos que a adição de pequenas concentrações de EPA e DHA em dietas com alta concentração de ácido linoleico causa sobre a composição de ácidos graxos do leite e o desempenho produtivo das ovelhas.

3.3.1 Peso corporal, consumo de matéria seca, produção e composição do leite

A inclusão de óleo de soja ou óleo de peixe nas dietas experimentais não afetou ($P > 0,10$) a variação de peso corporal das ovelhas ao longo do período experimental (Tabela 3). Os animais de todos os tratamentos apresentaram variação positiva no peso, o que indica que não houve restrição nutricional para produção de leite.

Para o CMS, verificou-se efeito de dietas ($P < 0,01$), de semana experimental ($P < 0,001$) e de interação (kg/dia, $P = 0,10$; % do PC e g/kg de PC^{0,75}, $P = 0,03$) entre as dietas e as semanas experimentais (Tabela 3, Figura 1). A interação ocorreu porque no início do experimento (2ª semana de lactação) os animais de todos os tratamentos apresentaram CMS similar ($P > 0,10$) e a partir da segunda semana os animais que receberam a dieta controle aumentaram progressivamente o CMS até atingirem o pico na 7ª semana experimental, ao passo, que a inclusão das fontes de óleo na dieta provocou

redução CMS entre a segunda e terceira semana experimental, com posterior aumento progressivo a taxas inferiores as observadas para dieta controle, até atingir o pico na sétima semana. Isso fez com que os animais alimentados com a dieta controle apresentassem maior ($P < 0,01$) CMS (kg/dia, % do PC, g/kg de PC^{0,75}) que os alimentados com as dietas contendo óleo (Tabela 3). Ao longo das semanas experimentais, as ovelhas que receberam as dietas contendo óleo apresentaram padrão de consumo similar (Figura 1). Em função disso, não houve efeito ($P > 0,10$) dos teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe sobre o CMS.

Tabela 3 – Peso corporal, consumo de matéria seca e produção de leite das ovelhas alimentadas com as dietas experimentais

Item	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³					
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*Peixe	L	Q	SEM	TRAT *SEM
Peso corporal, kg												
Inicial	62,7	64,8	63,0	62,3	63,0	0,83	0,28	0,93	0,29	0,32	–	–
Final	66,9	68,1	66,2	65,3	66,6	0,89	0,56	0,65	0,43	0,32	–	–
Variação	4,2	3,3	3,2	3,0	3,5	0,41	0,48	0,38	0,91	0,76	–	–
Consumo de MS												
kg/dia	2,33	2,12	2,14	2,07	2,10	0,03	< 0,01	< 0,01	0,66	0,92	< 0,001	0,10
% do PC	3,6	3,2	3,3	3,3	3,2	0,05	< 0,01	< 0,01	0,92	0,45	< 0,001	0,03
g/kg de PC ^{0,75}	101,9	91,3	94,1	92,1	91,7	1,27	< 0,01	< 0,01	0,95	0,59	< 0,001	0,03
Produção, g/3 horas												
Leite	201,7	184,8	189,5	205,4	221,6	4,16	0,21	0,89	< 0,01	0,62	< 0,001	0,46
LCG ⁴	216,1	204,1	206,2	219,9	232,5	4,85	0,46	0,88	0,07	0,69	< 0,001	0,49
LCGP ⁵	209,8	199,4	199,5	199,9	225,9	4,53	0,40	0,58	0,08	0,26	< 0,001	0,51
EA, LCG/CMS	95,2	100,6	98,4	116,4	114,9	2,85	0,54	0,12	0,03	0,96	0,12	0,52
Sangue												
AGNE, mEq/L	0,20	0,21	0,23	0,24	0,23	0,01	0,79	0,12	0,26	0,52	< 0,001	0,93

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*0P = dieta controle vs dieta contendo óleo de soja; CONT*Peixe = dieta controle vs dietas contendo óleo de peixe (CONT vs 25P, 50P e 75P); L = efeito linear; Q = efeito quadrático; SEM = efeito de semanas; SEM*TRAT = efeito da interação entre tratamentos e semanas.

⁴Produção de leite corrigida para 6,5% de gordura de acordo com Pulina e Nudda (2002).

⁵Produção de leite corrigida para 6,5% de gordura e 5,8% de proteína de acordo com Pulina e Nudda (2002).

Figura 1 – Consumo de matéria seca (média, EP = 0,08) pelas ovelhas durante 8 semanas de lactação de acordo com as dietas experimentais: CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja

Os dados apresentados na Figura 1 deixam claro que as fontes de óleo provocaram um efeito marcante de redução no consumo na primeira semana após o fornecimento das dietas, mas também ilustram a capacidade de adaptação dos animais às dietas, com o aumento no consumo após a terceira semana.

As dietas contendo óleo apresentaram maior densidade energética que a dieta controle (2,8 vs 2,6 Mcal/kg de MS, respectivamente; Tabela 2), o que explica a redução no CMS em resposta a utilização das fontes de óleo.

Quando comparado a dietas sem adição de óleo, a utilização de óleo de peixe em valores iguais ou acima de 1,0% (% da MS) consistentemente reduziu o CMS (ABUGHAZALEH et al., 2002; DONOVAN et al., 2000; SHINGFIELD et al., 2003; WHITLOCK et al., 2002). Na comparação entre dietas contendo 2,0% de óleo de soja ou 2,0% óleo de peixe, verificou-se menor consumo com a utilização do óleo de peixe (WHITLOCK et al., 2002). Entretanto, as inclusões de 0,33; 0,67 e 1,0% de óleo de peixe misturado a 1,67; 1,33 e 1,0% de óleo de soja, não afetaram o CMS de vacas leiteiras quando comparadas a uma dieta contendo 2,0% de óleo de soja como fonte única de gordura suplementar (WHITLOCK et al., 2006). O que é coerente com os resultados do presente experimento em que não houve efeito da substituição de até 0,75% do óleo de soja pelo óleo de peixe (% da MS), mesmo as dietas contendo altas inclusões de gordura (4,0% da MS). Resultados semelhantes foram reportados por Duckett e Gillis (2010) que compararam dietas contendo 4,0% de óleo de canola ou 4,0% de óleo de milho com dietas contendo 3,0% de óleo de canola + 1,0 de óleo de peixe ou 3,0% de óleo de milho + 1,0% de óleo de peixe e não verificaram diferença no CMS.

A produção de leite, leite corrigido para gordura (LCG) e leite corrigido para gordura e proteína (LCGP) foi similar ($P > 0,10$) na comparação entre a dieta controle e as contendo óleo (Tabela 3). Entretanto, verificou-se aumento linear na produção de leite ($P < 0,01$), LCG ($P = 0,07$) e LCGP ($P = 0,08$) com os teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe (Tabela 3). A produção de leite aumentou em 19,9% (0P vs 75P), de LCG em 13,9% (0P vs 75P) e de LCGP em 13,3% (0P vs 75P). Portanto, a redução não significativa ($P = 0,20$) na porcentagem de gordura do leite, bem como, a redução linear ($P = 0,03$) na concentração de proteína do leite, podem em parte explicar o aumento na produção de leite com as inclusões de óleo de peixe nas dietas.

Whitlock et al. (2006) compararam dietas contendo 0,33; 0,67 ou 1,0% de óleo de peixe misturado a 1,67; 1,33 ou 1,0% de óleo de soja com uma dieta contendo 2,0% de óleo de soja como fonte única de gordura suplementar para vacas leiteiras e verificaram maior produção de leite para os animais que receberam as dietas contendo óleo de peixe misturado ao óleo de soja. Resultado semelhante ao obtido no presente

experimento. Esses resultados sugerem um benefício adicional do fornecimento de óleo de peixe misturado ao óleo de soja sobre a produção de leite em comparação ao fornecimento do óleo de soja separadamente.

A eficiência alimentar (EA) (Tabela 3) não diferiu na comparação entre a dieta controle e as contendo óleo ($P > 0,10$). Entretanto, devido ao aumento linear na produção de leite, a substituição parcial do óleo de soja pelo óleo de peixe aumentou linearmente ($P = 0,03$) a EA.

Não houve efeito ($P > 0,10$) dos tratamentos sobre a concentração sérica de AGNE (Tabela 3). Tendo em vista que a concentração sanguínea de AGNE está relacionada com a mobilização de ácidos graxos dos adipócitos, os quais podem contribuir como supridores de energia nos casos em que a exigência energética supera o consumo, pode-se afirmar, que no presente experimento não houve contribuição dos AGNE ao aumento linear na produção de leite em resposta a utilização do óleo de peixe. Haja visto que a variação do peso corporal foi positiva, indicando que as ovelhas estavam adequadamente nutridas.

Não houve efeito ($P > 0,10$) dos tratamentos sobre o teor (%) e o rendimento (g/dia) de gordura do leite. Tipicamente, o fornecimento de óleo de peixe reduz o teor e o rendimento de gordura do leite (ANNETT et al., 2009; BHARATHAN et al., 2008; DONOVAN et al., 2000; SHINGFIELD et al., 2006; TORAL et al., 2010). O decréscimo na síntese *de novo* de ácidos na glândula mamária é o principal responsável pela redução no teor de gordura do leite (BAUMGARD et al., 2000; CHOUINARD et al., 1999). Os dados deste experimento demonstram que o efeito negativo das fontes de óleo sobre a concentração de ácidos graxos de cadeia curta do leite foi adequadamente compensado pelo aumento na incorporação de ácidos graxos de cadeia longa da dieta no leite (Tabela 6).

O teor de proteína do leite foi similar ($P > 0,10$) entre a dieta controle e a dieta contendo 4,0% de óleo de soja. Entretanto, foi inferior ($P < 0,05$) no leite dos animais alimentados com as três dietas contendo óleo de peixe quando comparados aos da dieta controle. Bem como, reduziu de maneira linear ($P = 0,03$) com os teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe (Tabela 4). Apesar disso, devido ao aumento linear na produção de leite, a produção de proteína do leite

aumentou linearmente ($P = 0,02$) com os teores crescentes de inclusão de óleo de peixe nas dietas. Pelo mesmo motivo, no contraste entre as três dietas contendo óleo de peixe e a controle não se verificou diferença ($P > 0,10$) entre os tratamentos. Estes resultados indicam que o decréscimo no teor de proteína do leite com os teores crescentes de inclusão de óleo de peixe na dieta foi devido, ao menos em parte, a um efeito de diluição ocasionado pelo aumento na produção de leite. Adicionalmente, um efeito direto dos ácidos graxos poliinsaturados do óleo de peixe sobre os microrganismos ruminais com consequente redução no suprimento de aminoácidos para incorporação no leite também pode ter ocorrido. Consistente com esta ideia, vacas em lactação com produção similar reduziram o teor de proteína do leite em resposta a infusão de 300 mL/d de óleo de peixe no rúmen, mas quando a mesma quantidade foi infundida no duodeno o teor de proteína do leite não foi afetado (LOOR et al., 2005).

A ausência de efeito do fornecimento das dietas contendo 4,0% de óleo de soja sobre o teor e rendimento de proteína do leite (Tabela 4) é coerente com os resultados disponíveis na literatura (ABUGHAZALEH et al., 2002; BOUATTOUT et al., 2008; EIFERT et al., 2006; FREITAS Jr. et al., 2010; LOOR; HERBEIN, 2003; RAMASWAMY et al., 2001). Em conjunto os resultados indicam que o óleo de peixe causa maior prejuízo à síntese de proteína do leite que o óleo de soja.

Tabela 4 – Composição e produção dos componentes do leite das ovelhas alimentadas com as dietas experimentais

Item	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³					
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*Peixe	L	Q	SEM	SEM*TRAT
Teor, %												
Gordura	7,4	7,5	7,1	7,5	7,0	0,10	0,98	0,52	0,43	0,90	< 0,0001	0,37
Proteína	5,2	4,8	4,7	4,5	4,5	0,05	0,14	0,02	0,03	0,43	0,17	0,77
Lactose	4,7	4,8	4,8	4,8	4,9	0,02	0,64	0,18	0,05	0,24	< 0,01	0,36
Sólidos Totais	18,1	18,0	17,5	17,5	17,3	0,11	0,50	0,22	0,09	0,55	< 0,0001	0,46
Produção, g/3 horas												
Gordura	14,7	14,0	13,8	14,8	15,4	0,36	0,55	0,72	0,20	0,70	< 0,0001	0,43
Proteína	9,2	8,8	8,6	9,1	10,2	0,18	0,40	0,85	0,02	0,19	< 0,001	0,34
Lactose	9,4	8,8	8,9	10,2	11,1	0,21	0,36	0,54	< 0,01	0,48	< 0,01	0,49
Sólidos Totais	35,3	33,4	34,1	36,1	38,6	0,75	0,43	0,99	0,03	0,64	< 0,001	0,49

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*0P = dieta controle vs dieta contendo óleo de soja; CONT*Peixe = dieta controle vs dietas contendo óleo de peixe (CONT vs 25P, 50P e 75P); L = efeito linear; Q = efeito quadrático; SEM = efeito de semanas; SEM*TRAT = efeito da interação entre tratamentos e semanas.

A concentração de lactose do leite não diferiu ($P > 0,10$) entre os animais alimentados com a dieta controle e os alimentados com as dietas contendo óleo. Entretanto, verificou-se aumento linear ($P = 0,05$) na concentração de lactose com as inclusões de óleo de peixe nas dietas (Tabela 4). Em função disso, e do aumento observado na produção de leite, o rendimento de lactose (g de lactose/3 horas) também aumentou linearmente ($P < 0,01$) à medida que o óleo de peixe foi adicionado às dietas. Similar aumento na concentração e rendimento de lactose no leite em resposta a utilização de óleo de peixe associado ao óleo de soja em detrimento do uso óleo de soja separadamente foi verificado por Whitlock et al. (2006).

Devido ao decréscimo linear na concentração de proteína, a concentração de sólidos totais do leite também reduziu linearmente ($P = 0,09$) com os teores crescentes de inclusão de óleo de peixe. Entretanto, a produção de sólidos totais (g de sólidos totais/3 horas) aumentou de maneira linear ($P = 0,03$) à medida que o óleo de peixe foi incluído nas dietas. A taxa de redução na concentração de sólidos totais foi de 12,5% (18,0 vs 17,3% para os tratamentos 0P e 75P, respectivamente), enquanto a taxa de aumento na produção de leite foi de 19,9% (184,8 vs 221,6 g/3 horas, para os tratamentos 0P e 75P, respectivamente) o que justifica o aumento observado na produção de sólidos totais (g de sólidos totais/3 horas) mesmo havendo redução na concentração de sólidos totais do leite (Tabela 4).

O ganho médio diário de peso corporal (GMD) das crias das ovelhas alimentadas com a dieta controle foi similar ($P > 0,10$) ao das crias das ovelhas que receberam as dietas contendo óleo (Tabela 5). Entretanto, as crias das ovelhas alimentadas com as dietas contendo os teores crescentes de óleo de peixe em substituição ao óleo de soja apresentaram aumento linear no GMD. O fornecimento das dietas experimentais às ovelhas não afetou ($P > 0,10$) o consumo de concentrado inicial pelas crias. Portanto, o aumento linear no GMD das crias ocorreu exclusivamente devido ao aumento linear na produção de leite das ovelhas (Tabela 3). O provável maior consumo de leite pelos cordeiros não exerceu efeito substitutivo ao consumo de concentrado inicial.

Araujo et al. (2008), também verificaram relação direta entre a produção de leite de ovelhas Santa Inês e o desempenho das crias na fase pré-desmama. Entretanto, estes autores verificaram menores consumos de concentrado inicial pelas crias das ovelhas

com maior produção de leite. Uma justificativa para estas variações nas respostas é que as crias avaliadas por Araujo et al. (2008) eram da raça Santa Inês que apresentam menor potencial de crescimento que as crias meio sangue Dorper x Santa Inês utilizadas no presente experimento.

Tabela 5 – Efeito do fornecimento das dietas experimentais para as ovelhas sobre o consumo de concentrado inicial e ganho de peso de suas crias

Item	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³					
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*Peixe	L	Q	SEM	SEM*TRAT
Idade inicial, dias	18,0	17,4	17,9	17,1	17,3	–	–	–	–	–	–	–
Idade final, dias	60,0	59,4	59,9	59,1	59,3	–	–	–	–	–	–	–
Peso inicial, kg	7,7	8,9	8,8	9,4	8,8	–	–	–	–	–	–	–
Peso final, kg	18,4	19,2	19,1	20,5	20,6	0,55	0,57	0,19	0,20	0,89	–	–
GMD ⁴ , g	256	246	249	284	279	0,01	0,54	0,33	< 0,01	0,70	< 0,001	0,59
CCI ⁵ , g/dia	261	219	187	188	199	0,01	0,45	0,13	0,74	0,60	< 0,001	0,96

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*0P = dieta controle vs dieta contendo óleo de soja; CONT*Peixe = dieta controle vs dietas contendo óleo de peixe (CONT vs 25P, 50P e 75P); L = efeito linear; Q = efeito quadrático; SEM = efeito de semanas; SEM*TRAT = efeito da interação entre tratamentos e semanas.

⁴GMD = ganho médio diário de peso corporal.

⁵CCI = consumo de concentrado inicial.

3.3.2 Composição de ácidos graxos do leite

A concentração dos ácidos graxos de cadeia curta (C4:0 a C12:0) e média (C14:0 a C16:1) no leite reduziu ($P < 0,0001$) com o fornecimento das dietas contendo óleo (Tabela 6). Esta é uma resposta típica de animais alimentados com dietas contendo óleo (ABUGHAZALEH et al., 2002; RAMASWAMY et al., 2001; WHITLOCK et al., 2002, 2006). Baumgard et al. (2002) mostraram que o CLA *trans*-10, *cis*-12 é um poderoso inibidor da síntese *de novo* de ácidos graxos na glândula mamária por reduzir a síntese das enzimas chaves da lipogênese (acetil-CoA-carboxilase e ácido graxo sintetase) (GERVAIS et al., 2009). A inclusão de 4,0% de óleo de soja na dieta aumentou em 50% a concentração de *trans*-10, *cis*-12 no leite (CONT vs 0P; efeito não significativo, $P = 0,18$) e o fornecimento de óleo de peixe aumentou ($P < 0,001$) em 100% a concentração deste isômero (CONT vs dietas com óleo de peixe). Portanto, isso pode ter contribuído para a redução observada na concentração dos ácidos graxos de cadeia curta.

Além disso, a incorporação de ácidos graxos de cadeia longa da dieta no leite também reduz a síntese *de novo* de ácidos graxos na glândula mamária (GRUMMER, 1991). A concentração de ácidos graxos de cadeia longa no leite aumentou ($P < 0,0001$) com o fornecimento das dietas contendo óleo, o que é reflexo da absorção e transferências destes ácidos graxos da dieta para gordura do leite (PALMQUIST; GRIINARI, 2006). Esta hipótese é condizente com o fato de que aproximadamente 50% da gordura do leite advêm de lipídios do plasma, e que 88% dos ácidos graxos derivados do sangue têm origem dietética e apenas 12% é de contribuição endógena (PALMQUIST; MATTOS, 1978). Em função do óleo de peixe e o óleo de soja terem apresentado concentrações semelhantes de ácidos graxos de cadeia longa (Tabela 2), os teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe não afetaram ($P > 0,10$) a concentração destes ácidos graxos no leite, resultado similar foi verificado por Whitlock et al. (2006).

Tabela 6 – Composição de ácidos graxos da gordura do leite das ovelhas alimentadas com as dietas experimentais

(continua)

Ácidos graxos, g/100 g	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³			
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*peixe	L	Q
C4:0 (butírico)	1,40	1,51	1,66	1,23	1,57	0,07	0,58	0,60	0,69	0,49
C6:0 (caproico)	1,70	1,32	1,37	1,10	1,33	0,05	0,01	< 0,001	0,55	0,33
C8:0 (caprílico)	1,74	1,21	1,25	1,01	1,18	0,05	< 0,001	< 0,001	0,36	0,44
C10:0 (cáprico)	6,40	3,96	3,94	3,40	3,61	0,20	< 0,001	< 0,001	0,22	0,68
C12:0 (láurico)	4,13	2,52	2,64	2,31	2,36	0,13	< 0,001	< 0,001	0,32	0,82
C14:0 (mirístico)	10,85	7,99	8,21	7,96	7,36	0,26	< 0,001	< 0,001	0,20	0,26
C14:1 (miristoleico)	0,61	0,53	0,49	0,51	0,49	0,01	0,02	< 0,001	0,56	0,75
C15:0 (pentadecanoico)	1,14	0,82	0,81	0,82	0,77	0,03	< 0,001	< 0,001	0,35	0,67
C16:0 (palmítico)	29,64	24,61	24,20	25,02	23,5	0,39	< 0,001	< 0,001	0,12	0,14
C16:1 (palmitoleico)	0,63	0,55	0,53	0,57	0,56	0,01	< 0,01	< 0,001	0,55	0,71
C18:0 (esteárico)	11,76	15,85	15,06	14,48	14,41	0,33	< 0,0001	< 0,0001	0,04	0,47
C18:1 <i>n</i> -9 (oleico)	22,01	26,11	25,17	25,86	26,20	0,44	< 0,001	< 0,001	0,79	0,44
C18:1 <i>trans</i> -11 (vacênico)	2,15	5,54	6,84	7,84	8,77	0,45	< 0,01	< 0,001	< 0,01	0,79
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 (rumênico)	0,76	1,35	1,49	1,65	1,45	0,09	0,02	< 0,001	0,62	0,35
C18:2 <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	0,02	0,03	0,03	0,04	0,05	0,00	0,18	< 0,001	0,03	0,79
C18:2 <i>n</i> -6 (linoleico)	2,64	3,49	3,55	3,53	3,45	0,11	< 0,01	< 0,01	0,90	0,75
C18:3 <i>n</i> -6 (gama linolênico)	0,20	0,26	0,26	0,26	0,24	0,01	< 0,01	< 0,01	0,42	0,77
C18:3 <i>n</i> -3 (linolênico)	0,11	0,20	0,20	0,20	0,17	0,01	0,02	< 0,001	0,43	0,56

Tabela 6 – Composição de ácidos graxos da gordura do leite das ovelhas alimentadas com as dietas experimentais

Ácidos graxos, g/100 g	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³			
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*Peixe	L	Q
C20:5 <i>n</i> -3 (EPA - eicosapentaenóico)	n.d. ⁶	n.d.	0,03	0,03	0,04	0,00	–	0,03	0,04	0,43
C22:6 <i>n</i> -3 (DHA - docosahexaenóico)	n.d.	n.d.	0,02	0,03	0,03	0,00	–	0,06	< 0,0001	0,06
Outros	3,90	7,03	8,26	9,44	10,00	0,44	< 0,01	< 0,0001	< 0,01	0,77
Cadeia curta (C4:0–C12:0)	15,48	10,58	10,92	9,10	10,11	0,42	< 0,0001	< 0,0001	0,24	0,60
Cadeia média (C14:0–C16:1)	42,86	34,50	34,22	34,88	32,67	0,65	< 0,0001	< 0,0001	0,12	0,16
Cadeia longa (C17:0–C22:6)	41,56	54,82	54,73	55,94	57,14	1,02	< 0,0001	< 0,0001	0,12	0,58
Saturados totais	69,79	60,57	59,90	58,15	57,00	0,83	< 0,0001	< 0,0001	0,02	0,83
Insaturados totais	30,21	39,43	40,10	41,85	43,00	0,83	< 0,0001	< 0,0001	0,02	0,83
MUFA ⁴	26,03	33,77	34,2	35,80	37,20	0,72	< 0,0001	< 0,0001	0,01	0,60
PUFA ⁵	4,20	5,67	5,91	6,10	5,79	0,18	< 0,001	< 0,0001	0,70	0,35
Total <i>n</i> -3	0,49	0,50	0,52	0,56	0,51	0,01	0,85	0,14	0,50	0,12

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*0P = dieta controle vs dieta contendo óleo de soja; CONT*Peixe = dieta controle vs dietas contendo óleo de peixe (CONT vs 25P, 50P e 75P); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

⁴MUFA = ácidos graxos monoinsaturados.

⁵PUFA = ácidos graxos poliinsaturados.

⁶n.d. = não detectado.

A concentração de ácidos graxos insaturados foi superior ($P < 0,0001$) no leite dos animais alimentados com as dietas contendo óleo (Tabela 6). Este resultado pode ser atribuído a maior absorção e transferência dos ácidos graxos insaturados das dietas adicionadas com óleo para o leite. A inclusão das fontes de óleo nas dietas reduziu ($P < 0,0001$) a concentração dos ácidos graxos saturados do leite, isso foi devido principalmente a redução na síntese *de novo* na glândula mamária dos ácidos graxos de cadeia curta e média saturados.

A concentração de ácidos graxos insaturados aumentou linearmente ($P = 0,02$), enquanto a de ácidos graxos saturados reduziu linearmente ($P = 0,02$) com os teores crescentes de inclusão de óleo de peixe nas dietas. O óleo de peixe e o óleo de soja utilizado apresentaram concentrações semelhantes de ácidos graxos insaturados e ácidos graxos saturados (Tabela 2). Provavelmente, as inclusões de óleo de peixe em substituição ao óleo de soja diminuíram a biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos insaturados, o que pode ter aumentado o fluxo duodenal de ácidos graxos insaturados e reduzido o de ácidos graxos saturados disponíveis para absorção e incorporação no leite.

A concentração de ácido oleico (C18:1 *cis*-9) foi maior ($P < 0,001$) no leite dos animais alimentados com as dietas contendo óleo. Entretanto, não foi afetada ($P > 0,10$) pelos teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe, o que pode ser explicado, devido o óleo de peixe utilizado ter apresentado concentração semelhante de ácido oleico (22,0 g/100 g de ácidos graxos) ao óleo de soja (23,4 g/100 g de ácidos graxos), (Tabela 2).

A concentração de ácido vacênico aumentou ($P < 0,01$) 157,7% no leite dos animais alimentados com a dieta adicionada com 4,0% de óleo de soja; e 263,6% ($P < 0,001$) quando as três dietas contendo óleo de peixe foram analisadas em comparação à controle. Além disso, verificou-se aumento linear ($P < 0,01$) na concentração de ácido vacênico à medida que o óleo de peixe foi incluído nas dietas. Isso deve ser entendido como um benefício da utilização do óleo de peixe misturado ao óleo de soja, uma vez que o aumento na concentração de ácido vacênico melhora o perfil lipídico do leite por ser precursor da síntese de CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11. Com a ressalva de que a esteroil-CoA desaturase capaz de converter o ácido vacênico C18:1 *trans*-11 em

C18:2 *cis*-9, *trans*-11 presente na glândula mamária de ruminantes (GRIINARI et al., 2000) também encontra-se no intestino delgado e tecido adiposo de humanos (ADLOF; DUVAL; EMKEN, 2000). Portanto, o aumento no consumo de ácido vacênico pode ter efeitos benéficos à saúde humana associados ao CLA.

Os aumentos observados na concentração de ácido vacênico em resposta a utilização do óleo de peixe indicam que as pequenas quantidades utilizadas dos ácidos graxos de cadeia longa do óleo de peixe (EPA e DHA) foram eficientes em inibir o passo final da biohidrogenação do ácido vacênico para ácido esteárico e favorecer o acúmulo de ácido vacênico no rúmen (LEE et al., 2005; SHINGFIELD et al., 2003) disponível para posterior incorporação no leite.

O leite dos animais alimentados com as dietas contendo óleo apresentou maior ($P < 0,0001$) concentração de ácido esteárico. Visto que, o ácido vacênico aumentou com o fornecimento dos óleos (Tabela 6), poder-se-ia esperar redução na concentração de esteárico. Entretanto, é importante considerar que nas dietas contendo óleo o suprimento de ácidos graxos insaturados foi amplamente aumentado, e com isso, mesmo havendo redução na biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos insaturados e consequentemente na produção de ácido esteárico, é coerente, que uma parte destes ácidos graxos seja completamente saturada a ácido esteárico. Ramaswamy et al. (2001) também verificaram aumento na concentração de ácido vacênico (7,96 vs 9,73 g/100 g de ácidos graxos) quando compararam uma dieta controle a uma adicionada com 2,0% de óleo de soja, respectivamente. Entre as dietas contendo óleo, verificou-se redução linear ($P = 0,04$) na concentração de ácido esteárico no leite à medida que o óleo de peixe foi incluído nas dietas, o que está de acordo com o aumento linear na concentração de ácido vacênico. Outros exemplos que demonstram a eficiência com que o óleo de peixe reduz a concentração de ácido esteárico do leite encontram-se disponíveis na literatura (RAMASWAMY et al., 2001; WHITLOCK et al., 2002).

A concentração de CLA *cis*-9, *trans*-11 aumentou ($P < 0,02$) em 77,6% com o fornecimento da dieta contendo 4,0% de óleo de soja (Tabela 6). Quando as três dietas contendo óleo de peixe foram analisadas em conjunto, verificou-se aumento de 101,3% na concentração do CLA *cis*-9, *trans*-11 no leite em comparação a dieta controle. Estas diferenças indicam maior eficiência da utilização do óleo de soja associado ao óleo de

peixe em aumentar a concentração de CLA do leite em detrimento do uso do óleo de soja separadamente. Entretanto, não houve efeito ($P > 0,05$) dos teores de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe sobre a concentração de CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11. Visto que a concentração de ácido vacênico no leite aumentou linearmente com os teores crescentes de substituição ao óleo de soja pelo óleo de peixe, esperava-se semelhante aumento na concentração de CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11. O que sugere que a atividade da enzima estearoil-CoA desaturase foi negativamente afetada pelas fontes de óleo e/ou que o fluxo de ácido vacênico excedeu a capacidade de dessaturação da glândula mamária (CHILLIARD; FERLAY; DOREAU, 2001; SESSLER et al., 1996).

Abughazaleh et al. (2002) também não verificaram benefício adicional do fornecimento de dietas contendo 1,0% de óleo de peixe misturado a 1,0% de óleo de soja sobre o aumento na concentração de CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 em comparação ao fornecimento de 2,0% óleo de soja como fonte única de gordura suplementar. O que contraria os resultados de Ramaswamy et al. (2001) e Whitlock et al. (2002) que verificaram efeito sinérgico da inclusão do óleo de peixe misturado ao óleo de soja na dieta sobre o aumento na concentração de CLA *cis*-9, *trans*-11. Whitlock et al. (2006) concluíram com vacas em lactação que a utilização de apenas 0,33% de óleo de peixe misturado a 1,66% de óleo de soja (% MS) foi suficiente para otimizar a síntese de CLA no leite, estes autores se basearam na ausência de efeito dos teores crescentes de inclusão de óleo de peixe (0,33; 0,67 e 1,0% MS) misturado ao óleo de soja (1,66; 1,33 e 1,0; respectivamente) sobre a concentração de CLA do leite. Contudo, no trabalho de Whitlock et al. (2006) não havia um tratamento contendo apenas óleo de soja como fonte exclusiva de lipídios para comparação com as dietas contendo óleo de peixe.

No presente experimento, com ovelhas em lactação, a hipótese de que as pequenas inclusões de óleo de peixe (0,25; 0,50 e 0,75% MS) em substituição parcial ao óleo de soja (3,75; 3,50 e 3,25% MS) iriam aumentar a síntese de CLA em comparação a utilização da dieta contendo apenas óleo de soja (4,0% MS) não se confirmou. A utilização de 4,0% de óleo de soja ao invés de 2,0% (% MS) como utilizado por outros autores que avaliaram o fornecimento de óleo de peixe misturado ao óleo de soja (RAMASWAMY et al., 2001; WHITLOCK et al., 2002, 2006) difere este experimento dos demais. E a ausência de efeito dos teores de inclusão de óleo de

peixe misturados ao óleo de soja nos permite sugerir que em dietas com altas inclusões de óleo de soja (4,0%) a utilização do óleo de peixe não exerce benefício direto na concentração de CLA do leite.

A concentração total dos ácidos graxos *n*-3 no leite não foi afetada ($P > 0,10$) pelos tratamentos. No entanto, como esperado, a concentração dos ácidos graxos EPA (C20:5 *n*-3) e DHA (C22:6 *n*-3) no leite aumentou linearmente ($P < 0,05$) com os teores crescentes de óleo de peixe. O que é desejável, devido aos efeitos benéficos destes ácidos graxos a saúde (RUXTON et al., 2007). Na literatura, tem sido reportado baixas eficiências de transferência destes ácidos graxos da dieta para o leite (PALMQUIST; GRIINARI, 2006), o que pode ser atribuído às suas altas taxas de biohidrogenação ruminal (DUCKETT; GILLIS, 2010; SCOLLAN et al., 2001).

3.4 Conclusões

As duas fontes de óleo melhoraram a composição lipídica do leite no que se refere à qualidade da gordura mais propícia à alimentação humana.

Em relação ao aumento na concentração de CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 no leite, as dietas contendo óleo de soja ou a mistura de óleo de soja e óleo de peixe apresentaram eficiências semelhantes. No entanto, a participação crescente do óleo de peixe na mistura óleo de peixe/óleo de soja foi mais eficiente em aumentar a concentração de ácido vacênico (C18:1 *trans*-11), bem como, melhorou o desempenho produtivo dos animais.

A estratégia que mais trouxe benefícios ao desempenho produtivo e a melhoria do perfil lipídico do leite foi a inclusão na dieta de 0,75% de óleo de peixe misturado a 3,25% de óleo de soja.

Referências

ABUGHAZALEH, A.A.; JENKINS, T.C. Disappearance of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids from cultures of mixed ruminal microorganisms. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 3, p. 645-651, 2004.

ABUGHAZALEH, A.A.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; WHITLOCK, L.A. Fatty acid profiles of milk and rumen digesta from cows fed fish oil, extruded soybeans or their blend. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 9, p. 2266-2276, 2002.

ADLOF, R.O.; DUVAL, S.; EMKEN, E.A. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in humans. **Lipids**, Champaign, v. 35, n. 2, p. 131-135, 2000.

ANNETT, R.W.; DAWSON, L.E.R.; EDGAR, H.; CARSON, A.F. Effects of source and level of fish oil supplementation in late pregnancy on feed intake, colostrums production and lamb output of ewes. **Animal Feed Science and Technology, Amsterdam**, v. 154, n. 3, p. 169-182, 2009.

ARAUJO, R.C.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; MENDES, C.Q.; RODRIGUES, G.H.; PACKER, I.U.; EASTRIDGE, M.L. Milk yield, milk composition, eating behavior, and lamb performance of ewes fed diets containing soybean hulls replacing coast cross (*Condon* sp.) hay. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, n. 12, p. 3511-3521, 2008.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15th ed. Arlington, 1990. 1117p.

_____. **Official methods of analysis**. 16th ed. Gaithersburg, 1997. 1141 p.

BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A.; GRINARI, J.M. Biosynthesis of conjugated linoleic acid ruminants. **Proceedings of the American Society of Animal Science**, Albany, v. 77, p. 1-15, 1999.

BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A.; DWYER, D.A.; SAEBØ, A.; BAUMAN, D.E. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 278, n. 1, p.179-184, 2000.

BAUMGARD, L.H.; MATITASHVILI, E.; CORL, B.A.; DWYER, D.A.; BAUMAN, D.E. *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**, Champaign, v. 85, n. 9, p. 2155-2163, 2002.

BHARATHAN, M.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; GIBSON, M.L.; KARGES, K. Conjugated linoleic acid increases in milk from cows fed condensed corn distillers soluble and fish oil. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 7, p. 2796-2807, 2008.

BOUATTOR, R.; CASALS, R.; ALBANELL, E.; SUCH, X.; CAJA, G. Feeding soybean oil to dairy goats increases conjugated linoleic acid in milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 6, p. 2399-2407, 2008.

CANNAS, A.; TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G.; PELL, A.N.; VAN SOEST, P.J. A mechanistic model for predicting the nutrient requirements and feed biological values for sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 1, p. 149-169, 2004.

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; DOREAU, M. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 70, n. 1, p. 31-48, 2001.

CHOUINARD, P.Y.; CORNEAU, L.; BARBANO, D.M.; METZGER, L.E.; BAUMAN, D.E. Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 129, n. 8, p. 1579-1584, 1999.

DONOVAN, D.C.; SCHINGOETHE, D.J.; BAER, R.J.; RYALI, J.; HIPPEN, A.R.; FRANKLIN, S.T. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in Milk fat from lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 11, p. 2620-2628, 2000.

DUCKETT, S.K.; GILLIS, M.H. Effects of oil source and fish oil addition on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 8, p. 2684- 2691, 2010.

EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LANNA, D.P.D.; L, W.M.; OLIVEIRA, M.V.M.; ARCURI, P.B.; CAMPOS, J.M.S.C.; LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C. Consumo, produção e composição do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e diferentes fontes de carboidratos na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 211-218, 2006.

FENG, S.; LOCK, A.L.; GANSWORTHY, P.C. Technical note: a rapid lipid separation method for determining fatty acid composition of milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 11, p. 3785-3788, 2004.

FREITAS Jr., J.E. de; RENNO, F.P.; SANTOS, M.V. dos.; GANDRA, J.R.; MATURANA FILHO, M.; VENTURELLI, B.C. Productive performance and composition of milk protein fraction in dairy cows supplemented with fat sources. **Brazilian Journal of Animal Science**, Champaign, v. 39, n. 4, p. 845-852, 2010.

GERVAIS, R.; McFADDEN, J.W.; LENGI, A.J.; CORL, B.A.; CHOUINARD, P.Y. Effects of intravenous infusion of *trans*-10, *cis*-12 on mammary lipid metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 10, p. 5167-5177, 2009.

GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H.; CHOUINARD, P.Y.; NURMELA, K.V.V.; BAUMAN, D.E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by delta⁹-desaturase. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, n. 9, p. 2285-2291, 2000.

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

JENKINS, T.C.; JENNY, B.F. Effect of hydrogenated fat on feed intake, nutrient digestion, and lactation performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, n.9, p.2316-2324, 1989.

KRAMER, J.K.; FELLNER, V.; DUGAN, M.E.; SAUER, F.D.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of Milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total *trans* fatty acids. **Lipids**, Champaign, v. 32, n. 11, p. 1219-1228, 1997.

LEE, M.R.F.; TWEED, J.K.S.; MOLONEY, A.P.; SCOLLAN, N.D. The effects of fish oil supplementation on rumen metabolism and the biohydrogenation of unsaturated fatty acids in beef steers given diets containing sunflower oil. **Animal Science**, Penicuik, v. 80, n. 3, p. 361-367, 2005.

LOOR, J.J.; HERBEIN, J.H. Dietary canola or soybean oil with two levels of conjugated linoleic acids (CLA) alter profiles of 18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat from dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 103, n. 1, p. 63-83, 2003.

LOOR, J.J.; DOREAU, M.; CHARDIGNY, J.M.; OLLIER, A.; SEBEDIO, J.L.; CHILLIARD, Y. Effects of ruminal or duodenal supply of fish oil on milk fat secretion and profiles of *trans*-fatty acids and conjugated linoleic acid isomers in dairy cows fed maize silage. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 119, n. 3, p. 227-246, 2005.

MOSLEY, E.E.; SHAFFI, B.; MOATE, P.J.; MCGUIRE, M.A. *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid is synthesized directly from vaccenic acid in lactating dairy cattle. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 136, n. 3, p. 570-575, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants:** sheep, goats, cervids, and new world camelids. Washington: National Academic Press, 2007. 292 p.

PALMQUIST, D.L.; GRINARI, J.M. Milk fatty acid composition in response to reciprocal combination of sunflower and fish oils in the diet. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 131, n. 3, p. 358-369, 2006.

PALMQUIST, D.L.; MATTOS, W. Turnover of lipoproteins and transfer to milk fat of dietary (1-carbon-14) linoleic acid in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 61, n. 5, p. 561-565, 1978.

PARK, Y. Conjugated linoleic acid (CLA): good or bad *trans* fat?. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 22S, n. 5, p. S4-S12, 2009.

PIPEROVA, L.S.; SAMPUGNA, J.; TETER, B.B.; KALSCHEUR, K.F.; YURAWECZ, M.P.; KU, Y.; MOREHOUSE, K.M.; ERDMAN, R.E. Duodenal and milk *trans* octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of *cis*-9 containing CLA in lactating cows. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 132, n. 6, p. 1235-1241, 2002.

PULINA, G.; NUDDA, A. Milk production. In: PULINA, G. (Ed.). **Dairy sheep feeding and nutrition**. Bologna: Avenue Media, 2002. chap. 1, p. 11-27.

RAMASWAMY, N.; BAER, R.J.; SHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KASPERSON, K.M.; WHITLOCK, L.A. Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 10, p. 2144-2151, 2001.

RUXTON, C.H.S.; REED, S.C.; SIMPSON, M.J.A.; MILLINGTON, K.J.; RUXTON, C. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. Commentary. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, Oxford, v. 20, n. 3, p. 275-287, 2007.

SAS INSTITUTE. **SAS® user's guide: statistics**, Version 8 Edition. Cary, 1999.

SCOLLAN, N.D.; DHANOA, M.S.; CHOI, N.J.; MAENG, W.J.; ENSER, M.; WOOD, J.D. Biohydrogenation and digestion of long chain fatty acids in steers fed on different sources of lipid. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 136, n. 3, p. 345-355, 2001.

SESSLER, A.M.; KAUR, N.; PALTAS, J.P.; NTAMBI, J.M. Regulation of stearoyl-CoA Desaturase 1 mRNA stability by polyunsaturated fatty acids in 3T3 adipocytes. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 271, n. 47, p. 29854-29858, 1996.

SHINGFIELD, K.J.; REYNOLDS, C.K.; HERVÁS, G.; GRIINARI, J.M.; GRANDISON, A.S.; BEEVER, D.E. 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**, Champaign, v. 89, n. 2, p. 714-732, 2006.

SHINGFIELD, K.J.; AHVENJARVI, S.; TOIVONEN, V.; AROLA, A.; NURMELA, K.V.V.; HUHTANEN, P.; GRIINARI, J.M. Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. **Animal Science**, East Lothian, v. 77, n. 1, p. 165-179, 2003.

SUSIN, I.; LOERCH, K.E.; McCLURE.; DAY, M.L. Effects of limit feeding a high-grain diet on puberty and reproductive performance of ewes. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, p. 3206-3215, 1995.

TORAL, P.G.; HERVÁS, G.; GÓMEZ-CORTÉS, P.; FRUTOS, P.; JUÁREZ, M.; FUENTE, M.A. de la. Milk fatty acid profile and dairy sheep performance in response to

diet supplementation with sunflower oil plus incremental levels of marine algae. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 4, p. 1655-1667, 2010.

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

WHITLOCK, L.A.; SCHINGOETHE, D.J.; ABUGHAZALEH, A.A.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F. Milk production and composition from cows fed small amounts of fish oil with extruded soybeans. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 10, p. 3972-3980, 2006.

WHITLOCK, D.J.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; BAER, R.J.; RAMASWAMY, N.; KASPERSON, K.M. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. p. 234-243, 2002.

4 DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DA CARCAÇA E COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DA CARNE DE CORDEIROS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO ÓLEO DE PEIXE EM SUBSTITUIÇÃO PARCIAL AO ÓLEO DE SOJA

Resumo

Os objetivos deste experimento foram avaliar os efeitos do fornecimento de baixos teores de óleo de peixe em substituição parcial ao óleo de soja, sobre o consumo de matéria seca (CMS), o ganho médio diário de peso corporal (GMD), as características da carcaça e a composição de ácidos graxos da carne de cordeiros confinados. Foram utilizados 50 cordeiros da raça Santa Inês, com $17,1 \pm 2,8$ kg de peso corporal, distribuídos em delineamento experimental de blocos completos casualizados (10 blocos e 5 tratamentos). As dietas foram isonitrogenadas ($16,2 \pm 0,3$ de PB na MS). Os tratamentos consistiram de uma dieta controle (CONT) contendo 10% de volumoso (bagaço de cana-de-açúcar *in natura*) e 90% de concentrado, sem adição de óleo; e 4 dietas adicionadas com 4,0% de óleo, consistindo de 0,0% (0P); 0,25% (25P); 0,50% (50P) e 0,75% (75P) de óleo de peixe com o óleo de soja completando o balanço de 4,0% de óleo adicionado (% de MS). As dietas foram ofertadas *ad libitum* diariamente. As sobras foram quantificadas semanalmente para determinar o CMS. Para acompanhamento do GMD, os animais foram pesados nos dias 0, 28, 56 e 84 do período experimental. Ao final dos 84 dias de confinamento, todos os animais foram abatidos para avaliação das características da carcaça e da composição de ácidos graxos da carne. A inclusão de 4,0% de óleo de soja na dieta reduziu o CMS em relação à dieta controle. Não houve efeito do fornecimento das dietas contendo óleo de peixe sobre o CMS quando comparadas a dieta controle. Entretanto, o CMS expresso em % do peso corporal (PC) e em g/kg de PC^{0,75} aumentou linearmente com os teores crescentes de inclusão de óleo de peixe, o que resultou em aumento linear no GMD dos cordeiros. As concentrações totais dos ácidos graxos de cadeia curta, média e longa na carne não foram influenciadas pelas dietas experimentais. A concentração de ácido esteárico aumentou com o fornecimento das dietas contendo óleo, entretanto, reduziu linearmente com os teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe. A concentração de ácido vacênico foi superior na carne dos animais alimentados com as dietas contendo óleo e verificou-se aumento linear em sua concentração à medida que o óleo de peixe foi adicionado à dieta. Em comparação ao tratamento controle, os animais alimentados com as dietas contendo óleo de peixe apresentaram maior concentração de CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 na carne, entretanto, não houve diferença entre a dieta controle e a dieta contendo 4,0% de óleo de soja para este parâmetro. Assim como, não houve efeito dos teores de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe sobre a concentração de CLA *cis*-9, *trans*-11. As duas fontes de óleo, de peixe e de soja, melhoram a composição lipídica da carne. Mas, o uso do óleo de peixe em substituição parcial ao óleo de soja teve benefícios adicionais ao uso do óleo de soja separadamente, por aumentar a concentração de ácido vacênico e de CLA na carne, e o GMD dos cordeiros.

Palavras-chave: Ácido docosahexaenóico; Ácido linoleico conjugado; Lipídios; Ovinos; Perfil de ácidos graxos

Abstract

The objectives of these experiments were to evaluate the effects of small amounts of fish oil supply in partial replacement of soybean oil on dry matter intake (DMI), growth, carcass characteristics, and meat fatty acid profile of feedlot lambs. Fifty Santa Inês ram lambs with 17.1 ± 2.8 of initial BW were penned individually and used in a randomized complete block design with 10 blocks and 5 treatments. All diets were isonitrogen (16.2 ± 0.3 % of CP on a DM basis). Treatments consisted of a control diet (CONT) with a 10:90 ratio of forage to concentrate (DM basis), and 4 diets with 4% added fat consisting of 0.0% (0FO), 0.25% (25FO), 0.50% (50FO) and 0.75% (75FO) fish oil with soybean oil providing the balance of 4% added fat. Diets were fed daily, and animal were allowed ad libitum access. Orts were recorded every week to determine DMI. Animals were weighed on d 0, 28, 56 and 84 of the experimental period to determine ADG. At the end of the 84 d feeding trial, all animals were slaughtered for carcass characteristics evaluations and determine meat fat acid profile. DMI (kg/d, % of BW e g/kg of BW^{0.75}) was higher for lambs fed control diet vs soybean oil (4,0% of DM). DMI was similar for fish oil diets vs control diet. However, DMI (% of BW and g/kg of BW^{0.75}) increased linearly when fish oil replaced soybean oil, as consequence ADG also increased linearly. Short chain fat acids, medium chain fat acids and long chain fat acids were similar for all diets. Stearic acid concentration was higher for lambs fed the fat diets vs control. However, stearic acid concentration decreased linearly when fish oil replaced soybean oil. Vaccenic acid concentration was higher for lambs fed the fat-supplemented diets vs the control. In addition, vaccenic acid increased linearly with fish oil inclusion. CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 showed higher concentration in meat of animals fed diets containing fish oil compared to the control diet, however was not affected by soybean oil inclusion (4,0% DM). However, effects were not observed on CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 when fish oil replaced soybean oil. Soybean oil or soybean oil plus fish oil improved meat lipids composition. Fish oil in partial replacement of soybean oil was beneficial by increasing vaccenic acid and CLA concentration, and ADG in lambs.

Keywords: Conjugated linoleic acid; Docosahexaenoic acid; Fatty acid profile; Lipids; Sheep

4.1 Introdução

Muitos resultados encontram-se disponíveis na literatura a respeito do fornecimento de fontes de gordura suplementar para animais ruminantes (TORAL et al., 2010; DUCKETT; GILLIS, 2010). Em função dos prováveis benefícios que o consumo de ácidos graxos da família ômega-3 (*n*-3) e CLA promovem a saúde humana (PARK,

2009), o fornecimento de óleo de peixe é uma boa alternativa, por ser rico nos ácidos graxos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) e favorecer o acúmulo de ácido vacênico no rúmen (TORAL et al., 2010) que pode ser utilizado para posterior síntese endógena de CLA nos tecidos (PIPEROVA et al., 2002).

Apesar da utilização de óleo de peixe como fonte exclusiva de gordura suplementar aumentar a concentração de ácido vacênico e CLA nos produtos de ruminantes (DONOVAN et al., 2000; TORAL et al., 2010), Ramaswamy et al. (2001) e Whitlock et al. (2002) mostraram efeito sinérgico da utilização do óleo de peixe misturado ao óleo de soja sobre o aumento na concentração desses ácidos graxos.

A utilização do óleo de peixe (DONOVAN et al., 2000; SHINGFIELD et al., 2003) ou do óleo de soja separadamente (BOUATTOUT et al., 2008), bem como da mistura destas fontes em diferentes proporções tem sido bem avaliada para animais em lactação (RAMASWAMY et al., 2001; WHITLOCK et al., 2002, 2006), visando manipular a composição de ácidos graxos do leite. Entretanto, existem poucas informações a respeito do desempenho de animais em crescimento, e da composição química e perfil de ácidos graxos da carne de cordeiros recebendo estas fontes de gordura associadas.

A respeito da utilização do óleo de peixe uma resposta consistente é seu efeito em reduzir o consumo de matéria seca, especialmente quando incluído na dieta em valores acima de 1,0% da MS (ABUGHAZALEH et al., 2002; DONOVAN et al., 2000; WHITLOCK et al., 2002).

Com isso, objetivou-se avaliar os efeitos do fornecimento de pequenos teores de óleo de peixe em substituição parcial ao óleo de soja, sobre o consumo de matéria seca (CMS), o ganho médio diário de peso corporal (GMD), as características de carcaça e o perfil de ácidos graxos da carne de cordeiros em confinamento.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Local, animais e instalações experimentais

O experimento foi conduzido nas instalações para confinamento de ovinos do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) do Departamento de

Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, localizada em Piracicaba-SP (22° 42' 24" S e 47° 37' 53" O), Brasil.

Foram utilizados 50 cordeiros não castrados da raça Santa Inês, com peso médio inicial de $17,1 \pm 2,8$ kg e $66,0 \pm 9,0$ dias de idade. Os animais foram confinados em baias cobertas (1 animal/baia) com piso de concreto e dimensões de 1,3 m x 3,5 m. Todos os animais foram everminados com 1,0% moxidectin (Cydectin, Fort Dodge Saúde Animal, Campinas, São Paulo, Brasil) na dosagem de 1 mL/50 kg de peso corporal e receberam aplicação de suplemento vitamínico ADE antes do início do experimento.

4.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo alimentar

O delineamento experimental foi em blocos completos casualizados com 10 blocos e 5 tratamentos. Os blocos foram definidos de acordo com o peso e idade dos animais no início do experimento. O período experimental teve duração de 84 dias, divididos em três sub-períodos de 28 dias.

Os tratamentos foram definidos pela adição de teores crescentes de óleo peixe (OP) em substituição ao óleo de soja (OS) de modo a perfazerem juntos 4% da MS da dieta. Os óleos foram adicionados a dieta base, contendo 90% de concentrado e 10% de volumoso (bagaço de cana-de-açúcar *in natura*). Os tratamentos foram: CONT (controle) – sem adição de óleo; 0P – adição de 4,0% de óleo de soja; 25P – adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja (% da MS); 50P – adição de 0,5% de óleo de peixe e 3,5% de óleo de soja e 75P – adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja. As dietas experimentais foram formuladas de acordo com as recomendações do NRC (2007). A proporção dos ingredientes e a composição química das dietas estão apresentadas na Tabela 7. O perfil de ácidos graxos do óleo de soja e óleo de peixe utilizado, encontra-se na Tabela 8.

Tabela 7 – Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais, % da MS

Item	Tratamentos ¹				
	CONT	0P	25P	50P	75P
Ingredientes					
Bagaço de cana-de-açúcar <i>in natura</i>	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Milho	56,3	51,4	51,4	51,4	51,4
Farelo de Soja	10,0	10,9	10,9	10,9	10,9
Casca de soja	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Ureia	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Cloreto de amônia	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Calcário	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Mistura mineral ²	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Óleo de peixe	-	-	0,25	0,50	0,75
Óleo de soja	-	4,0	3,75	3,50	3,25
Composição química					
Matéria seca (% da MO)	83,5	83,6	83,7	83,3	83,8
Matéria orgânica	95,1	94,8	94,3	95,0	95,1
Proteína bruta	16,3	16,5	15,9	16,3	15,8
Carboidratos não fibrosos	45,5	40,7	40,7	41,4	41,4
Fibra insolúvel em detergente neutro	30,5	31,3	31,4	31,0	31,4
Lipídios totais	2,7	6,4	6,4	6,4	6,5
Energia metabolizável, Mcal/kg de MS ³	2,6	2,9	2,9	2,9	2,9

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²Composição: 7,5% P; 13,4% Ca; 1,0% Mg; 7% S; 14,5% Na; 500 ppm Fe; 300 ppm Cu; 4600 ppm Zn; 15 ppm Se.

³Estimada usando o *Small Ruminant Nutrition System*, v. 1.8.6 (CANNAS et al., 2004).

⁴n.d. = não detectado.

Tabela 8 – Composição de ácidos graxos das dietas experimentais e do óleo de soja e óleo de peixe

Ácidos graxos, g/100 g	Tratamentos ¹					Óleo de Soja	Óleo de peixe
	CONT	0P	25P	50P	75P		
C12:0 (láurico)	0,03	0,01	0,02	0,03	0,03	n.d.	0,10
C14:0 (mirístico)	0,15	0,13	0,17	0,23	0,27	0,08	1,31
C16:0 (palmítico)	15,69	14,46	14,33	14,53	14,56	11,32	12,07
C16:1 (palmitoleico)	0,18	0,14	0,17	0,22	0,25	n.d.	1,29
C18:0 (esteárico)	3,65	3,66	3,67	3,78	3,69	4,05	3,46
C18:1 <i>n</i> -9 (oleico)	32,89	27,46	26,27	26,56	26,27	23,38	21,96
C18:2 <i>n</i> -6 (linoleico)	44,23	48,78	50,34	49,61	49,44	54,79	47,55
C18:3 <i>n</i> -3 (linolênico)	2,07	3,08	3,28	3,31	3,36	4,90	5,19
C20:5 <i>n</i> -3 (EPA - eicosapentaenóico)	n.d. ⁴	n.d.	0,11	0,19	0,29	n.d.	2,86
C22:6 <i>n</i> -3 (DHA - docosahexaenóico)	n.d.	n.d.	0,10	0,19	0,28	n.d.	3,11
Saturados	20,01	18,83	18,51	18,83	18,84	15,64	17,55
PUFA ²	47,51	52,25	54,22	53,70	53,76	60,98	59,06
MUFA ³	1,15	1,45	1,00	0,91	1,13	23,38	23,39
PUFA <i>n</i> -6	45,83	49,14	50,73	50,01	49,83	56,08	47,55
PUFA <i>n</i> -3	2,07	3,08	3,49	3,68	3,93	4,90	11,51

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²PUFA = ácidos graxos poliinsaturados.

³MUFA = ácidos graxos monoinsaturados.

⁴n.d. = não detectado.

O milho e a casca de soja foram grosseiramente moídos utilizando-se um moedor (Nogueira[®] DPM – 4, Itapira, Brasil) desprovido de peneira e misturados ao farelo de soja, ureia, calcário, mistura mineral e a monensina sódica (Elanco do Brasil, São Paulo, Brasil) utilizando-se um misturador horizontal com capacidade para 500 kg

(Lucato[®], Limeira, Brasil). A monensina sódica foi adicionada na proporção de 25 mg/kg de matéria natural. A mistura dos óleos aos ingredientes concentrados da dieta foi realizada no momento antes do fornecimento. O concentrado + óleo (s) e o bagaço de cana-de-açúcar *in natura* foram pesados separadamente em balança eletrônica de precisão de 1 g (Marte[®], LC 100, São Paulo, Brasil), misturados, e ofertados diariamente na forma de dieta total. Os animais tiveram acesso *ad libitum* à dieta e água fresca. A quantidade de ração ofertada foi definida com base na leitura de cocho realizada antes do fornecimento. As sobras foram mantidas em aproximadamente 10% da quantidade ofertada.

Uma vez por semana as sobras de cada unidade experimental foram pesadas, amostradas (10%) e compostas por tratamento. A cada partida de ração uma amostra foi colhida. As amostras foram conservadas a -20 °C para posterior análise.

O GMD dos animais foi acompanhado por meio de pesagens realizadas nos dias 0, 28, 56 e 84 do período experimental após jejum de sólidos de 14 horas.

As amostras das rações ofertadas e das sobras foram moídas em moinho tipo Wiley (Marconi, Piracicaba, Brasil) com peneiras com crivos de 1,0 mm e analisadas para determinação da matéria seca (MS) por meio da secagem das amostras em estufa a 105 °C por 24 h, matéria mineral (MM) através da incineração das amostras em mufla a 550 °C por 4 h (AOAC, 1990), nitrogênio total utilizando um aparelho Leco FP528 (Leco Corporation, St. Joseph, MI), conforme a AOAC (1997), e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) conforme Van Soest; Robertson e Lewis (1991), utilizando α -amilase termoestável e sulfito de sódio, em um aparelho Ankom 200 (Ankom Tech. Corp., Fairport, NY). Os lipídios totais foram determinados utilizando um aparelho Leco TFE2000 (LECO[®] Corp.,).

4.2.3 Abate dos animais e características da carcaça

Ao final do período de confinamento todos os animais foram abatidos. As carcaças quentes foram pesadas (PCQ), e resfriadas em câmara de refrigeração a 4 °C por 24 horas, sendo novamente pesadas para a obtenção do peso da carcaça fria (PCF). O rendimento da carcaça quente (RCQ), rendimento da carcaça fria (RCF) e a perda por

resfriamento (PR) foram calculados pelas fórmulas: $RCQ = (PCQ/PCA) \times 100$; $RCF = (PCF/PCA) \times 100$ e $PR = [(PCQ - PCF)/PCQ] \times 100$, sendo PCA = o peso corporal dos animais no momento antes do abate.

A medida da espessura de gordura subcutânea (EG) foi realizada sobre o músculo *Longissimus dorsi*, entre 12º e 13º costelas. Após 24 h de refrigeração, o músculo *Longissimus dorsi* foi seccionado de maneira transversal e a EG determinada dos dois lados da carcaça utilizando-se um paquímetro digital (Battery, modelo SR44) graduado em mm. A face exposta do músculo *Longissimus dorsi* foi desenhada em papel vegetal, posteriormente sua área foi mensurada com auxílio de um planímetro graduado em cm² para obtenção da área de olho de lombo (AOL). A partir dos valores obtidos do lado direito e esquerdo da carcaça, calculou-se a média aritmética da EG e AOL por carcaça.

4.2.4 Composição de ácidos graxos da carne

No dia da avaliação das carcaças resfriadas (24 horas *pos mortem*) uma amostra do músculo *Longíssimos dorsi* de aproximadamente 15 cm foi retirada da meia carcaça direita de cada animal, desta amostra foram retiradas duas sub-amostras, uma para a determinação dos lipídios totais e a outra para determinação do perfil de ácidos graxos, do dia da colheita até a realização das análises as amostras foram mantidas a -20 °C.

Os lipídios totais foram determinados utilizando o extrator de gordura Leco TFE2000 (LECO® Corp.). Para a determinação da composição de ácidos graxos da carne, utilizou-se uma amostra *in natura* de aproximadamente 2 g retirada da porção central do músculo *Longissimus dorsi*. Após o descongelamento (4 °C por 12 horas), a amostra foi homogeneizada em 20 mL de solução de clorofórmio e metanol (2:1) com o auxílio de um homogeneizador, desintegrador e emulsificador tipo Turrax (Marconi, MA102/PLUS). Em seguida, o homogeneizado foi centrifugado por 20 min a 2400 rpm, a porção líquida resultante foi transferida utilizando uma seringa de vidro para um tubo Falcon de 50 mL. Adicionou-se 4,4 mL de solução de NaCl (1,5%) ao líquido e realizou-se nova centrifugação por 20 minutos a 2400 rpm. Este processo ocasionou a separação da mistura em duas fases, contendo uma camada de NaCl entre elas. Com

auxílio da seringa de vidro, rompendo-se a camada de NaCl, retirou-se a fase inferior, onde encontravam-se os componentes lipídicos diluídos em clorofórmio, e transferiu-se para um tubo com tampa. Para finalizar o processo de extração o conteúdo do tubo foi submetido a nitrogênio gasoso, até evaporação completa do solvente restando apenas a gordura (FOLCH, 1957).

Uma alíquota do extrato de lipídios foi metilada em duas etapas com 2 mL de 0,5M de metóxido de sódio (10 minutos a 50 °C), seguido da adição de HCL metanólico (10 minutos a 80 °C), conforme Kramer et al. (1997) e armazenada a -20 °C em frascos âmbar de 1,5 mL contendo nitrogênio para evitar possível oxidação.

Para a quantificação e determinação dos ácidos graxos foi utilizado um cromatógrafo Agilent Technologies 7890A, equipado com detector de ionização de chama (7683B); e coluna capilar de sílica fundida (J & W 112-88A7, Agilent Technologies), de 100 m de comprimento e 250 µm de diâmetro interno, contendo 0,20 µm de cianopropil policiloxano. A aquisição de dados foi realizada por meio do software ChemStation (Agilent Technologies). O tempo total da corrida cromatográfica foi 87,5 minutos divididos em quatro rampas de aquecimento, conforme segue: 70 °C (1 min), 100 °C (5 °C/min; 2 min), 175 °C (10 °C/min; 40 min), 225 °C (5 °C/min) e 245 °C (20 °C/min; 20 min). O H₂ foi utilizado como gás de arraste numa vazão de 1,0 mL/min; a temperatura do injetor e do detector foi de 260 °C. O gás N₂ foi utilizado como *Makeup*, com fluxo de 30 mL/min. A opção *split* em uma relação de 50:1 foi utilizada. A identificação dos ácidos graxos das amostras foi realizada com base no tempo de retenção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos dos padrões. Utilizou-se um padrão de 37 compostos (Supelco mix C4 – C24/n. 18919). E padrões individuais para a identificação dos ácidos graxos C18:0, C18:2 *cis*-9, *trans*-11 e C18:2 *trans*-10, *cis*-12 (Nu-Chek Prep, Elysian, MN).

4.2.5 Análise estatística

Os dados de CMS, GMD e eficiência alimentar (EA) foram analisados como medidas repetidas no tempo usando o procedimento MIXED do SAS (1999), de acordo com o modelo estatístico que segue: $Y = \mu + B_i + D_j + S_{ij} + T_k + (DT)_{jk} + E_{ijk}$, onde $\mu =$

média geral, B_i = efeito de bloco ($i = 1$ a 10), D_j = efeito de dieta ($j = 1$ a 5), S_{ij} = erro residual associado ao efeito do animal (bloco $\times$ dieta); T_k = efeito de período experimental ($k = 1$ a 7); $(DT)_{jk}$ = interação de dieta $\times$ período experimental, e E_{ijk} = erro residual. Bloco e animal foram incluídos como efeitos aleatórios. A matriz de covariância que melhor se ajustou ao conjunto de dados foi a “autoregressiva” (AR 1). As médias dos tratamentos foram obtidas utilizando o comando LSMEANS. Foram realizados dois contrastes previamente definidos: 1 – dieta controle (CONT) vs dieta contendo 4,0% de óleo de soja (OP); 2 – CONT vs dietas contendo óleo de peixe. Os efeitos dos teores de inclusão de óleo de peixe nas dietas em substituição ao óleo de soja foram avaliados por meio de polinômios ortogonais linear e quadrático. Os efeitos de período e interação dieta $\times$ período foram definidos pelo teste F da análise de variância.

Os parâmetros de carcaça e a composição de ácidos graxos da carne foram analisados usando o procedimento “MIXED” do SAS (1999) de acordo com o modelo: $Y = \mu + B_i + D_j + E_{ij}$, em que μ = média geral, B_i = efeito de bloco ($i = 1$ a 10), D_j = efeito de dieta ($j = 1$ a 5), e E_{ij} = erro residual. Bloco foi incluído como efeito aleatório. As médias foram obtidas pelo comando LSMEANS. Os contrastes previamente descritos (dieta controle vs dieta contendo 4,0% de óleo de soja e controle vs dietas contendo óleo de peixe) foram realizados. Os efeitos dos teores de inclusão de óleo de peixe nas dietas em substituição ao óleo de soja foram avaliados por meio de polinômios ortogonais linear e quadrático. Os efeitos foram declarados significativos quando $P < 0,10$.

4.3 Resultados e discussões

4.3.1 Desempenho

Os animais alimentados com a dieta contendo 4,0% de óleo de soja reduziram ($P = 0,02$) o CMS (kg/dia, g/kg de $PC^{0,75}$ e % PC) em relação aos da dieta controle. Entretanto, o GMD e consequentemente o PCA destes animais não foram afetados ($P > 0,10$). Em função da redução ($P = 0,02$) de 14% no CMS ter sido acompanhada por um decréscimo de 11,3% no GMD (efeito não significativo; $P = 0,14$) não houve diferença

($P > 0,10$) na EA entre os animais que receberam a dieta contendo 4,0% de óleo de soja e os da dieta controle.

Redução no CMS não é uma resposta comum do fornecimento de óleo de soja para ruminantes (ABUGHAZALEH et al., 2002; ALMEIDA, 2008; FREITAS Jr et al., 2010; GÓMEZ-CORTÉS et al., 2008; LOOR; HERBEIN, 2003; MAIA et al., 2006; WHITLOCK et al., 2002). Mas, os resultados do presente experimento são coerentes, visto que o menor CMS das dietas contendo 4,0% de óleo de soja foi reflexo de sua maior densidade energética em relação à controle (Tabela 8).

Os animais alimentados com as dietas contendo óleo de peixe apresentaram CMS, GMD e peso corporal ao abate (PCA) semelhantes ($P > 0,10$) aos que receberam a dieta controle (Tabela 9). O CMS em kg/dia não foi afetado pelos teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe, entretanto, quando expresso em g/kg de $PC^{0,75}$ ($P = 0,07$) e em % do PC ($P = 0,08$) aumentou linearmente. O que explica o aumento linear ($P = 0,09$) no GMD à medida que o óleo de peixe foi incluído nas dietas. Como consequência da relação direta entre aumento no CMS e GMD a EA não foi afetada ($P > 0,05$) pelos teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe (Tabela 9).

Existem trabalhos na literatura em que o fornecimento de óleo de peixe quando comparado a dietas sem adição de óleo também não afetou o CMS (kg/dia) (SHINGFIELD et al., 2003; WHITLOCK et al., 2006). Entretanto, na maior parte dos casos a utilização do óleo de peixe como fonte única de gordura suplementar (ABUGHAZALEH et al., 2002; DONOVAN et al., 2000; TORAL et al., 2010; WHITLOCK et al., 2002) ou misturado a outras fontes de gordura (ABUGHAZALEH et al., 2002; TORAL et al., 2010; WHITLOCK et al., 2002) reduziu o CMS. Em nenhum dos trabalhos revisados a suplementação com óleo de peixe aumentou o CMS. Visto que as dietas contendo óleo apresentaram a mesma densidade energética (Tabela 7), o aumento observado no CMS com os teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe não era esperado.

4.3.2 Carcaça

Os PCQ, PCF, RCQ e RCF não foram afetados ($P > 0,10$) pelas dietas experimentais (Tabela 10). O que deve ser atribuído a semelhança ($P > 0,10$) no PCA (Tabela 10). O dados de rendimento de carcaça observados estão dentro da faixa comumente observada para animais da raça Santa Inês, como exemplo Ferreira et al. (2011) reportaram valores de 50,6% e 49,2% para os rendimentos de carcaça quente e rendimento de carcaça fria, respectivamente.

Tabela 9 – Idade, peso corporal e desempenho dos cordeiros alimentadas com as dietas experimentais

Item ⁴	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³					
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*Peixe	L	Q	P	TRAT*P
Idade inicial, dias	69	64	66	67	63	–	–	–	–	–	–	–
Idade final, dias	153	148	150	151	147	–	–	–	–	–	–	–
Peso inicial, kg	17,2	17,1	17,1	17,0	17,1	–	–	–	–	–	–	–
Peso final, kg	37,3	35,0	34,8	38,5	36,7	0,82	0,19	0,69	0,17	0,55	–	–
GMD, g	239	212	210	254	234	0,01	0,14	0,73	0,09	0,51	< 0,0001	0,99
CMS												
kg/dia	0,99	0,85	0,87	0,99	0,92	0,02	0,02	0,19	0,15	0,34	< 0,0001	0,75
g/kg de PC ^{0,75}	84,2	74,1	76,9	83,4	79,9	1,14	< 0,01	0,18	0,08	0,29	< 0,0001	0,58
% do PC	3,7	3,3	3,5	3,7	3,6	0,04	< 0,01	0,20	0,07	0,32	< 0,0001	0,53
EA, g de ganho/kg												
MS	247	244	245	268	254	0,01	0,86	0,52	0,37	0,55	0,04	0,99

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*0P = dieta controle vs dieta contendo óleo de soja; CONT*Peixe = dieta controle vs dietas contendo óleo de peixe (CONT vs 25P, 50P e 75P); L = efeito linear; Q = efeito quadrático; P = efeito de período; TRAT*P = efeito da interação entre tratamentos e período.

⁴GMD = ganho médio diário de peso corporal; CMS = consumo de matéria seca; EA = eficiência alimentar.

Tabela 10 – Peso e rendimento de carcaça, espessura de gordura, área de olho de lombo, gordura peri renal e porcentagem de lipídios totais da carne dos cordeiros alimentados com as dietas experimentais

Item ⁴	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³			
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*Peixe	L	Q
PCA, kg	39,2	37,2	37,2	41,0	39,0	0,90	0,29	0,97	0,16	0,49
PCQ, kg	19,8	18,7	18,6	20,3	19,6	0,46	0,29	0,75	0,23	0,70
PCF, kg	19,3	18,4	18,3	20,0	19,1	0,46	0,30	0,82	0,25	0,58
RCQ, %	50,5	50,2	50,1	49,4	50,2	0,21	0,50	0,13	0,68	0,32
RCF, %	49,5	49,1	49,2	48,8	48,9	0,20	0,54	0,29	0,63	0,94
PR, %	2,1	2,1	1,7	1,4	2,4	0,12	0,99	0,30	0,53	< 0,01
EG, mm	1,5	1,4	1,5	1,6	1,7	0,05	0,85	0,40	0,10	0,80
AOL, cm ²	12,3	12,8	13,0	14,5	12,8	0,24	0,48	0,75	0,42	0,08
GPR, kg	0,6	0,6	0,5	0,7	0,7	36,72	0,49	0,29	0,32	0,78
Lipídios totais, %	2,3	2,1	2,1	2,5	2,1	0,09	0,47	0,92	0,51	0,29

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*0P = dieta controle vs dieta contendo óleo de soja; CONT*Peixe = dieta controle vs dietas contendo óleo de peixe (CONT vs 25P, 50P e 75P); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

⁴PCA = peso corporal ao abate; PCQ = peso de carcaça quente; PCF = peso de carcaça fria; RCQ = rendimento de carcaça quente; RCF = rendimento de carcaça resfriada; PR = perda por resfriamento; EG = espessura de gordura; AOL = área de olho de lombo; GPR = gordura peri renal.

A PR (%) das carcaças foi similar ($P > 0,10$) na comparação entre a dieta controle e as adicionadas com óleo. No entanto, foi afetada de forma quadrática ($P < 0,01$) pelos teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe, com menor valor, observado nas carcaças dos animais que receberam a dieta contendo 3,5% de óleo de soja misturado a 0,50% de óleo de peixe (Tabela 10). De acordo com Osório et al. (2002) a PR é inversamente relacionada à quantidade de gordura de cobertura da carcaça. Neste experimento a espessura de gordura sobre o músculo *Longissimus dorsi* não foi afetada ($P = 0,10$) pelos tratamentos, não sendo, portanto uma boa moduladora da PR. Uma explicação para isso é que a EG tomada apenas sobre o músculo *Longissimus dorsi* pode não ter representado a cobertura de gordura da carcaça como um todo (OSÓRIO et al., 2002).

Não houve efeito ($P > 0,10$) da suplementação lipídica sobre o peso de gordura peri renal e concentração de lipídios totais da carne. A AOL não diferiu ($P > 0,10$) entre os cordeiros alimentados com a dieta controle e os alimentados com as dietas contendo óleo (Tabela 10). Entretanto, aumentou de forma quadrática ($P = 0,08$) com os teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe, sendo o maior valor observado nas carcaças dos animais que receberam a dieta contendo 3,50% de óleo de soja misturado a 0,50% de óleo de peixe (50P), isso é coerente com o maior GMD ($P = 0,09$; efeito linear) dos animais deste tratamento quando comparados aos alimentados com as dietas contendo 4,0% de óleo de soja (0P) ou 3,75% de óleo de soja misturado a 0,25% de óleo de peixe (25P). Normalmente, animais com maior GMD apresentam maior peso de carcaça e como consequência maior AOL (BORTON et al., 2005).

4.3.3 Composição de ácidos graxos da carne

Não houve efeito ($P > 0,10$) da utilização das fontes de óleo sobre a concentração total dos ácidos graxos de cadeia curta, média e longa da carne (Tabela 11). Estes resultados indicam que a eficiência de absorção e transferência dos ácidos graxos de cadeia longa da dieta para a carne foi reduzida, assim como, a suplementação com os ácidos graxos de cadeia longa não afetou a síntese *de novo* de ácidos graxos no tecido adiposo. Como suporte a esta ideia, o fornecimento de ácidos graxos de cadeia longa para animais em lactação comumente resulta em aumento na concentração destes

ácidos graxos no leite, com consequente redução na síntese de ácidos graxos de cadeia curta na glândula mamária (GRUMMER, 1991; WHITLOCK et al., 2006).

A concentração de ácidos graxos insaturados foi menor ($P = 0,09$) na carne dos animais alimentados com as três dietas contendo óleo de peixe em comparação à controle. A inclusão de 4,0% de óleo de soja na dieta não teve efeito ($P > 0,10$) sobre estes ácidos graxos, assim como não houve efeito ($P > 0,10$) dos teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe (Tabela 11). A redução na concentração dos ácidos graxos insaturados com a utilização das dietas contendo óleo de peixe foi devido à menor ($P < 0,0001$) concentração de ácidos graxos monoinsaturados verificada na carne destes animais, visto que, como esperado, a concentração de ácidos graxos poliinsaturados na carne aumentou ($P < 0,01$) com o fornecimento das dietas contendo óleo de peixe. Os ácidos graxos monoinsaturados identificados foram o ácido miristoleico (C14:1), palmitoleico (C16:1), oleico (18:1 *cis*-9) e vacênico (18:1 *trans*-11), para os ácidos miristoleico e palmitoleico, não verificou-se efeito ($P > 0,10$) dos tratamentos. A concentração de ácido vacênico foi superior ($P < 0,0001$) na carne dos animais que receberam as dietas contendo óleo de peixe, quando comparados aos da dieta controle. Portanto, o ácido graxo responsável pela redução na concentração dos ácidos graxos insaturados, foi o ácido oleico, que teve concentração 18,4% inferior ($P < 0,0001$) na carne dos animais alimentados com óleo de peixe, quando comparados aos da dieta controle. A suplementação com óleo de soja (4,0% da MS) também reduziu (19%) a concentração ($P < 0,001$) de ácido oleico da carne. Decréscimo na concentração de ácido oleico (C18:1 *cis*-9) na carne de cordeiros suplementados com fontes de óleo ricas em ácido linoleico tem sido frequentemente reportado (BAS et al., 2007; LEE et al., 2007; MIR et al., 2000).

O consumo de ácido oleico foi maior pelos animais alimentados com as dietas adicionadas com óleo (8,9; 14,9; 14,6; 16,7 e 15,4 g/dia; tratamentos CONT, 0P, 25P, 50P e 75P, respectivamente). Logo, o menor teor de ácido oleico na carne dos animais que receberam as dietas contendo óleo deve ser atribuído a menor captura deste ácido graxo do sangue e/ou a um decréscimo em sua síntese a partir do ácido esteárico pela enzima esteroil-CoA dessaturase. Sessler et al. (1996) demonstraram que o ácido linoleico e o linolênico exercem efeito inibidor sobre a síntese desta enzima. Neste

experimento, o suprimento de ácido linoleico e linolênico foi amplamente aumentado com a inclusão do óleo de soja e/ou óleo de peixe nas dietas, visto que ambas as fontes apresentaram altas concentrações destes ácidos graxos (Tabela 8).

Em comparação à dieta controle, a concentração de ácido vacênico foi 181,0% ($P < 0,0001$) e 259,3% ($P < 0,0001$) superior na carne dos cordeiros alimentados com a dieta contendo 4,0% de óleo de soja ou com as três dietas contendo óleo de peixe, respectivamente (Tabela 11). Além disso, a substituição do óleo de soja pelo o óleo de peixe resultou em aumento linear ($P = 0,02$) na concentração de ácido vacênico. O aumento na concentração de ácido vacênico melhora o perfil lipídico da carne, visto que animais (GRIINARI et al., 2000) e humanos (ADLOF; DUVAL; EMKEN, 2000) possuem a enzima esteroil-CoA desaturase capaz de converter o ácido vacênico em CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11. Portanto, o aumento no consumo de ácido vacênico pode ter efeitos benéficos à saúde humana associados ao CLA.

Coerente com os resultados descritos para o ácido vacênico, a concentração de ácido esteárico foi inferior ($P = 0,03$) na carne dos animais alimentados com a dieta contendo 4,0% de óleo de soja e com as dietas contendo óleo de peixe ($P = 0,05$) em comparação a dieta controle. Adicionalmente, a substituição de até 0,75% de óleo de soja pelo óleo de peixe reduziu linearmente ($P = 0,04$) a concentração de ácido esteárico na carne dos cordeiros. Em conjunto, estes resultados reforçam a ideia de que as pequenas quantidades dos ácidos graxos EPA e DHA presentes no óleo de peixe utilizado (Tabela 8) foram efetivas em reduzir a biohidrogenação ruminal do ácido vacênico a ácido esteárico.

Outros autores haviam comprovado a eficácia com que o óleo de peixe favorece o acúmulo de ácido vacênico em produtos de ruminantes (ABUGHAZALEH et al., 2002; BRARATHAN et al., 2008; RAMASWAMY et al., 2001; TORAL et al., 2010; WHITLOCK et al., 2002), entretanto, eles avaliaram inclusões de óleo de peixe em valores iguais ou superiores a 1,0% da MS o que pode comprometer o desempenho animal (ANNETT et al., 2009; DONOVAN et al., 2000; KITESSA et al., 2001). Os benefícios da utilização destes pequenos teores de óleo de peixe sobre a composição lipídica da carne, associados a melhoria no desempenho animal (Tabela 9) criam uma nova possibilidade de uso desta tecnologia.

Dois isômeros de CLA, C18:2 *cis*-9, *trans*-11 e C18:2 *trans*-10, *cis*-12 foram identificados na carne dos cordeiros (Tabela 11). Para o *trans*-10, *cis*-12 não houve efeito ($P > 0,10$) dos tratamentos. A concentração de C18:2 *cis*-9, *trans*-11 foi 42,3% superior (efeito não significativo, $P = 0,11$) na comparação entre a dieta contendo 4,0% de óleo de soja e a controle. Quando as três dietas contendo óleo de peixe foram analisadas em conjunto, verificou-se aumento ($P = 0,04$) de 51,3% na concentração de CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 na carne em comparação a dieta controle. Entretanto, sua concentração não foi afetada ($P > 0,10$) pela substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe. Visto que a concentração de ácido vacênico aumentou linearmente à medida que o óleo de peixe foi incluído nas dietas, esperava-se um aumento semelhante na concentração de CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11. O que reforça a ideia de que a atividade da enzima estearoil-CoA desaturase foi negativamente afetada pelas fontes de óleo (SESSLER et al. 1996), mas também permite explorar a hipótese de que o fluxo de ácido vacênico excedeu a capacidade de dessaturação da estearoil-CoA desaturase no tecido muscular (CHILLIARD; FERLAY; DOREAU, 2001).

O fornecimento das dietas contendo óleo não afetou ($P > 0,10$) a concentração dos ácidos graxos *n*-3 da carne. Contudo, entre as dietas contendo óleo, verificou-se efeito quadrático ($P = 0,03$) em resposta aos teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe, com o menor valor observado na carne dos animais que receberam a dieta contendo 3,5% de óleo de soja misturado a 0,5% de óleo de peixe. Isso foi modulado pelas reduções numéricas na concentração dos ácidos graxos linolênico e gama linolênico na carne dos animais deste tratamento, que apesar de não significativas ($P > 0,10$) quando somadas promoveram esta resposta.

Conforme esperado, a concentração dos ácidos graxos EPA (C20:5 *n*-3) e DHA C22:6 *n*-3 na carne aumentou linearmente ($P < 0,05$) com os teores crescentes de óleo de peixe. O que é desejável, devido aos efeitos benéficos destes ácidos graxos a saúde (RUXTON et al., 2007). O EPA e o DHA apresentam altas taxas de biohidrogenação ruminal (DUCKETT; GILLIS, 2010; SCOLLAN et al., 2001) o que explica suas baixas concentrações na carne.

Tabela 11 – Composição de ácidos graxos da gordura da carne dos cordeiros alimentadas com as dietas experimentais

(continua)

Ácidos graxos, g/100 g	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³			
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*peixe	L	Q
C10:0 (cáprico)	0,15	0,13	0,14	0,14	0,13	0,00	0,22	0,42	0,89	0,25
C12:0 (láurico)	0,08	0,11	0,09	0,10	0,09	0,01	0,17	0,51	0,31	0,98
C14:0 (mirístico)	2,04	2,33	2,10	2,30	2,20	0,05	0,06	0,23	0,66	0,44
C14:1 (miristoleico)	0,05	0,08	0,06	0,10	0,06	0,01	0,29	0,38	0,70	0,62
C15:0 (pentadecanoico)	0,29	0,31	0,31	0,34	0,33	0,01	0,22	0,03	0,18	0,95
C16:0 (palmítico)	24,10	23,71	23,36	24,18	24,24	0,18	0,44	0,67	0,16	0,58
C16:1 (palmitoleico)	0,56	0,53	0,54	0,58	0,53	0,01	0,31	0,73	0,78	0,10
C18:0 (esteárico)	13,57	14,75	15,12	14,53	13,68	0,21	0,03	0,05	0,04	0,14
C18:1 <i>n</i> -9 (oleico)	44,47	36,03	36,61	36,35	35,85	0,64	< 0,0001	< 0,0001	0,80	0,45
C18:1 <i>trans</i> -11 (vacênico)	1,68	4,72	5,23	6,93	5,95	0,32	< 0,0001	< 0,0001	0,02	0,15
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 (rumênico)	0,78	1,11	1,07	1,22	1,13	0,07	0,11	0,04	0,75	0,90
C18:2 <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	0,09	0,07	0,08	0,09	0,10	0,01	0,37	0,91	0,28	0,84
18:2 <i>n</i> -6 (linoleico)	6,45	10,00	9,64	8,51	10,02	0,37	< 0,001	< 0,001	0,74	0,20
C18:3 <i>n</i> -3 (gama linolênico)	0,10	0,17	0,20	0,15	0,16	0,01	0,04	0,02	0,45	0,82
C18:3 <i>n</i> -3 (linolênico)	0,15	0,32	0,32	0,29	0,34	0,02	< 0,0001	< 0,0001	0,80	0,28
C20:5 <i>n</i> -3 (EPA - eicosapentaenóico)	n.d. ⁶	n.d.	0,12	0,12	0,19	0,01	0,16	< 0,001	< 0,01	0,18

Tabela 11 – Composição de ácidos graxos da gordura da carne dos cordeiros alimentadas com as dietas experimentais

(conclusão)

Ácidos graxos, g/100 g	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³			
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*Peixe	L	Q
C22:6 <i>n</i> -3 (DHA - docosahexaenóico)	n.d. ⁶	n.d.	0,12	0,14	0,23	0,01	0,95	< 0,001	< 0,001	0,20
Outros	5,46	5,61	4,90	3,92	4,78	0,17	0,78	0,04	0,05	0,04
Cadeia curta (C4:0–C12:0)	0,22	0,24	0,23	0,25	0,21	0,01	0,53	0,82	0,47	0,65
Cadeia média (C14:0–C16:1)	27,12	27,00	26,40	27,46	27,36	0,22	0,80	0,91	0,28	0,60
Cadeia longa (C17:0–C22:6)	72,66	72,79	73,39	72,29	72,43	0,23	0,83	0,92	0,31	0,63
Saturados totais	41,44	42,45	42,24	42,71	41,88	0,21	0,14	0,13	0,57	0,52
Insaturados totais	58,56	57,55	57,76	57,29	57,86	0,21	0,13	0,09	0,83	0,71
MUFA ⁴	47,75	42,04	43,10	44,56	42,96	0,50	< 0,0001	< 0,0001	0,19	0,07
PUFA ⁵	10,81	15,51	14,65	12,73	15,16	0,50	< 0,001	< 0,01	0,48	0,09
Total <i>n</i> -3	3,19	3,84	3,41	2,56	3,46	0,16	0,11	0,89	0,17	0,03

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*0P = dieta controle vs dieta contendo óleo de soja; CONT*Peixe = dieta controle vs dietas contendo óleo de peixe (CONT vs 25P, 50P e 75P); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

⁴MUFA = ácidos graxos monoinsaturados.

⁵PUFA = ácidos graxos poliinsaturados.

⁶n.d. = não detectado.

4.4 Conclusões

As duas fontes de óleo melhoraram a composição lipídica da carne. Mas, é recomendada a inclusão na dieta de 0,75% de óleo de peixe misturado a 3,25% de óleo de soja, esta mistura teve benefícios adicionais ao uso do óleo de soja separadamente, por melhorar o ganho de peso e o perfil lipídico da gordura da carne dos cordeiros.

Referências

ABUGHAZALEH, A.A.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; WHITLOCK, L.A. Fatty acid profiles of milk and rumen digesta from cows fed fish oil, extruded soybeans or their blend. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 9, p. 2266-2276, 2002.

ADLOF, R.O.; DUVAL, S.; EMKEN, E.A. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in humans. **Lipids**, Champaign, v. 35, n. 2, p. 131-135, 2000.

ALMEIDA, O.C. de. **Concentração arterial, retenção de metabólitos pela glândula mamária e concentração de CLA arterial e no leite de cabras, em resposta à ingestão de fontes de ácidos graxos poliinsaturados ou doses crescentes de óleo de soja**. 2008. 153 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

ANNETT, R.W.; DAWSON, L.E.R.; EDGAR, H.; CARSON, A.F. Effects of source and level of fish oil supplementation in late pregnancy on feed intake, colostrums production and lamb output of ewes. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 154, n. 3, p. 169-182, 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15th ed. Arlington, 1990. 1117p.

_____. **Official methods of analysis**. 16th ed. Gaithersburg, 1997. 1141 p.

BAS, P.; BERTHELOT, V.; PATTIER, E.; NORMAND, J. Effect of level of linseed on fatty acid composition of muscles and adipose tissues of lambs with emphasis on *trans* fatty acids. **Meat Science**, Barking, v. 77, n. 4, p. 678-688, 2007.

BHARATHAN, M.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; GIBSON, M.L.; KARGES, K. Conjugated linoleic acid increases in milk from cows fed condensed corn distillers soluble and fish oil. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 7, p. 2796-2807, 2008.

BORTON, R.J.; LOERCH, S.C.; MCCLURE, K.E.; WULF, D.M. Comparison of characteristics of lambs red concentrate or grazed on ryegrass to traditional or heavy slaughter weights. I. Production, carcass, and organoleptic characteristics. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, n. 3, p. 679-685, 2005.

BOUATTOUR, R.; CASALS, R.; ALBANELL, E.; SUCH, X.; CAJA, G. Feeding soybean oil to dairy goats increases conjugated linoleic acid in milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 6, p. 2399-2407, 2008.

CANNAS, A.; TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G.; PELL, A.N.; VAN SOEST, P.J. A mechanistic model for predicting the nutrient requirements and feed biological values for sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 1, p. 149-169, 2004.

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; DOREAU, M. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 70, n. 1, p. 31-48, 2001.

DONOVAN, D.C.; SCHINGOETHE, D.J.; BAER, R.J.; RYALI, J.; HIPPEN, A.R.; FRANKLING, S.T. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in Milk fat from lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 11, p. 2620-2628, 2000.

DUCKETT, S.K.; GILLIS, M.H. Effects of oil and fish oil addition on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.88, n. 8, p. 2684-2691, 2010.

FERREIRA, E.M.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; MENDES, C.Q.; GENTIL, R.S.; ARAUJO, R.C.; AMARAL, R.C.; LOERCH, S.C. Growth, feed intake, carcass characteristics, and eating behavior of feedlot lambs fed high-concentrate diets containing soybean hulls. **Journal of Animal Science**, Champaign, 2010. In press.

FOLCH, J. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemical**, Bethesda, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

FREITAS Jr., J.E. de; RENNÓ, F.P.; SANTOS, M.V. dos.; GANDRA, J.R.; MATURANA FILHO, M.; VENTURELLI, B.C. Productive performance and composition of milk protein fraction in dairy cows supplemented with fat sources. **Brazilian Journal of Animal Science**, Viçosa, v. 39, n. 4, p. 845-852, 2010.

GÓMEZ-CORTÉS, P.; BACH, A.; LUNA, P.; JUÁREZ, M.; FUENTE, M.A. de la. Effects of extruded linseed supplementation on n-3 fatty acids and conjugated linoleic acid in milk and cheese from ewes. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 9, p. 4122-4134, 2009.

GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H.; CHOUINARD, P.Y.; NURMELA, K.V.V.; BAUMAN, D.E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy

cows by delta⁹-desaturase. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, n. 9, p. 2285-2291, 2000.

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

KRAMER, J.K.; FELLNER, V.; DUGAN, M.E.; SAUER, F.D.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of Milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total *trans* fatty acids. **Lipids**, Champaign, v. 32, n. 11, p. 1219-1228, 1997.

KITESSA, S.M.; GULATI, S.K.; ASHES, J.R.; FLECK, E.; SCOTT, T.W.; NICHOLS. Utilisation of fish oil in ruminants I. Fish oil metabolism in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 89, n. 3, p. 189-199, 2001.

LEE, J.H.; WALLER, J.C.; YILMAZ, Y.; MELTON, S.L. Effect of feeding rumen-protected dietary protein-oil supplements on fatty acid composition and α -tocopherol content of blood serum and muscle lipids of lambs. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 72, n. 3, p. 101-110, 2007.

LOOR, J.J.; HERBEIN, J.H. Dietary canola or soybean oil with two levels of conjugated linoleic acids (CLA) alter profiles of 18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat from dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 103, n. 1, p. 63-83, 2003.

MAIA, F.J.; BRANCO, A.F.; MOURO, G.F.; MARCANTONIO, C.; SANTOS, G.T. dos; MINELLA, T.F.; MACEDO, F.A.F. Inclusão de fontes de óleo na dieta de cabras em lactação: digestibilidade dos nutrientes e parâmetros ruminais e sanguíneos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 4, p. 1496-1503, 2006.

MIR, Z.; RUSHFELDT, M.L.; MIR, P.S.; PATERSON, L.J.; WESELAKE, R.J. Effect of dietary supplementation with either conjugated linoleic acid (CLA) or linoleic acid rich oil on the CLA content of lamb tissues. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 36, n. 1, p. 25-31, 2000.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants:** sheep, goats, cervids, and new world camelids. Washington: National Academic Press, 2007. 292 p.

OSÓRIO, J.C.S.; OLIVEIRA, N.M.; OSÓRIO, M.T.M.; JARDIM, R.D.; PIMENTEL, M.A. Produção de carnes em cordeiros cruza Border Leicester com ovelhas Corriedale e Ideal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 1469-1480, 2002. Suplemento.

PARK, Y. Conjugated linoleic acid (CLA): good or bad *trans* fat? **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 22S, n. 5, p. S4-S12, 2009.

PIPEROVA, L.S.; SAMPUGNA, J.; TETER, B.B.; KALSCHEUR, K.F.; YURAWECZ, M.P.; KU, Y.; MOREHOUSE, K.M.; ERDMAN, R.E. Duodenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of *cis*-9 containing CLA in lactating cows. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 132, n. 6, p. 1235-1241, 2002.

RAMASWAMY, N.; BAER, R.J.; SHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KASPERSON, K.M.; WHITLOCK, L.A. Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 10, p. 2144-2151, 2001.

RUXTON, C.H.S.; REED, S.C.; SIMPSON, M.J.A.; MILLINGTON, K.J.; RUXTON, C. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. Commentary. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, Oxford, v. 20, n. 3, p. 275-287, 2007.

SAS INSTITUTE. **SAS® user's guide**: Statistics, Version 8 Edition. Cary, 1999.

SCOLLAN, N.D.; DHANOA, M.S.; CHOI, N.J.; MAENG, W.J.; ENSER, M.; WOOD, J.D. Biohydrogenation and digestion of long chain fatty acids in steers fed on different sources of lipid. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 136, n. 3, p. 345-355, 2001.

SESSLER, A.M.; KAUR, N.; PALTAS, J.P.; NTAMBI, J.M. Regulation of stearyl-CoA desaturase 1 mRNA stability by polyunsaturated fatty acids in 3T3 adipocytes. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 271, n. 47, p. 29854-29858, 1996.

SHINGFIELD, K.J.; AHVENJARVI, S.; TOIVONEN, V.; AROLA, A.; NUMEREKA, K.V.V.; HUHTANEN, P.; GRIINARI, J.M. Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. **Animal Science**, Penicuik, v. 77, n. 1, p. 165-179, 2003.

TORAL, P.G.; HERVÁS, G.; GÓMEZ-CORTÉS, P.; FRUTOS, P.; JUÁREZ, M.; FUENTE, M.A. de la. Milk fatty acid profile and dairy sheep performance in response to diet supplementation with sunflower oil plus incremental levels of marine algae. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 4, p. 1655-1667, 2010.

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**, Champaign, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

WHITLOCK, L.A.; SHINGOETHE, D.J.; ABUGHAZALEH, A.A.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F. Milk production and composition from cows fed small amounts of

fish oil with extruded soybeans. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 10, p. 3972-3980, 2006.

WHITLOCK, L.A.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; BAER, R. J.; RAMASWAMY, N.; KASPERSON, K.M. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 1, p. 234-243, 2002.

5 DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES E METABOLISMO RUMINAL DE ÁCIDOS GRAXOS EM BORREGOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO ÓLEO DE PEIXE EM SUBSTITUIÇÃO PARCIAL AO ÓLEO DE SOJA

Resumo

Os objetivos deste experimento foram avaliar os efeitos do fornecimento de pequenos teores de óleo de peixe em substituição parcial ao óleo de soja, sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes, as características de fermentação ruminal e a biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos. Foram utilizados cinco borregos F1 Dorper x Santa Inês, com $51,7 \pm 3,1$ kg de peso corporal, canulados no rúmen e no duodeno, distribuídos em delineamento experimental quadrado latino 5 x 5. As dietas foram isonitrogenadas ($16,2 \pm 0,3$ de PB na MS). Os tratamentos consistiram de uma dieta controle (CONT) contendo 10% de volumoso (bagaço de cana-de-açúcar *in natura*) e 90% de concentrado, sem adição de óleo; e 4 dietas adicionadas com 4,0% de óleo, consistindo de 0,0% (0P); 0,25% (25P); 0,50% (50P) e 0,75% de óleo de peixe (75P), com o óleo de soja completando o teor de 4,0% de óleo adicionado (% de MS). O consumo de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), carboidratos não fibrosos (CCNF) e fibra em detergente neutro (CFDN) (kg/dia), bem como a digestibilidade da MS, MO e FDN não foram afetados pelos tratamentos. A suplementação com as fontes de óleo reduziu a digestibilidade da proteína bruta (PB). A digestibilidade dos lipídios totais e o NDT (% da MS) foram superiores nas dietas contendo óleo. A concentração de acetato, butirato e dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) totais foi maior no conteúdo ruminal dos animais alimentados com a dieta controle em relação aos das dietas contendo óleo, como consequência, o pH ruminal destes animais foi inferior. O fluxo duodenal de C18:0 e C18:1 *trans*-11 aumentou com o fornecimento das dietas contendo 4,0% de óleo de soja. O fluxo duodenal de C18:1 *trans*-11 e CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 foi superior para os animais que receberam gordura suplementar. Adicionalmente, observou-se aumento linear no fluxo duodenal de ácido C18:1 *trans*-11 em resposta a inclusão de óleo de peixe nas dietas. A biohidrogenação ruminal do C18:2 *cis*-9, *cis*-12; C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15; eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) não foi afetada pelos tratamentos. A biohidrogenação ruminal do C18:1 *cis*-9 diminuiu com a inclusão de óleo nas dietas. A inclusão de 0,25% de óleo de peixe em substituição parcial ao óleo de soja na dieta (% da MS) foi suficiente para otimizar a síntese ruminal de CLA *cis*-9, *trans*-11. Apesar disso, é indicada a substituição de até 0,75% (% da MS) do óleo de soja (4% da MS) pelo óleo de peixe visando aumentar o fluxo duodenal de C18:1 *trans*-11.

Palavras-chave: Ácido linoleico conjugado; Ácidos graxos; Biohidrogenação; Ovinos

Abstract

The objectives of these experiments were to evaluate the effects of small amounts of fish oil supply in partial replacement of soybean oil on intake and digestibility of nutrients, some rumen constituents, and ruminal biohydrogenation of fatty acids. Five ram lambs with 51.7 ± 3.1 kg of initial BW cannulated in the rumen and proximal duodenum were assigned in a 5 x 5 Latin square design. All diets were isonitrogen (16.2 ± 0.3 % of CP on a DM basis). Treatments consisted of a control diet (CONT) with 10:90 ratio of forage to concentrate (DM basis), and 4 diets with added fat consisting of 0.0% (0FO), 0.25% (25FO), 0.50% (50FO) and 0.75% (75FO) fish oil with soybean oil to complete 4% added fat. The DM, OM, NFC, and NDF intakes (kg/d) were not affected by treatments. Apparent digestibility of DM, OM and NDF digestibility were similar for all diets. Soybean oil and fish oil supplementations decreased CP digestibility. Total lipids digestibility and TDN (% DM) was higher in diets with oils compared to the control diet. Ruminal concentrations of acetate, butyrate and total SCFA were higher for animals fed the control diet. Ruminal pH was lower for animals fed the control diet compared to diets with oils. Duodenal flow of C18:0 and C18:1 *trans*-11 was greater for ram lambs supplemented with soybean oil. Duodenal flow of C18:1 *trans*-11 and CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 was greater for diets containing oils. In addition, C18:1 *trans*-11 flow to the duodenum increased linearly with fish oil inclusion. Ruminal biohydrogenation of C18:2 *cis*-9, *cis*-12; C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15; eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) were similar for all diets. Ruminal biohydrogenation of C18:1 *cis*-9 was higher for control diet vs fat-supplemented. When associated with high amounts of soybean oil only a small amount of fish oil (0.25% of DM) is necessary to optimize ruminal concentration of CLA. Despite this, the fish oil addition (up to 0.75% of DM) replacing soybean oil is beneficial by increasing duodenal flow of C18:1 *trans*-11.

Keywords: Biohydrogenation; Conjugated linoleic acid; Fatty acid; Sheep

5.1 Introdução

Está bem fundamentada a ideia de que o fornecimento de óleo de peixe aumenta a concentração de CLA no leite de animais ruminantes (ABUGHAZALEH et al., 2002; DONOVAN et al., 2000; TORAL et al., 2010). De 80 (MOSLEY et al., 2006) a 93% (PIPEROVA et al., 2002) do CLA *cis*-9, *trans*-11 encontrado nos produtos de ruminantes é sintetizado a partir do ácido C18:1 *trans*-11.

O C18:1 *trans*-11 utilizado na síntese endógena de CLA *cis*-9, *trans*-11 é oriundo da biohidrogenação incompleta dos ácidos graxos insaturados no rúmen. Lóor et al. (2005) e Duckett e Gillis (2010) demonstraram que a suplementação com 2,5 ou 1,0%

de óleo de peixe, respectivamente, resultou em aumento no fluxo duodenal de C18:1 *trans*-11, deixando claro que inclusões superiores a 1,0% de óleo de peixe na dieta são efetivas em alterar o padrão de biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos. Entretanto, foi verificado que quando associado a 1,66% de óleo de soja (% da MS) a inclusão de apenas 0,33% de óleo de peixe na dieta (% da MS) foi suficiente para otimizar a síntese ruminal de CLA *cis*-9, *trans*-11 (WHITLOCK et al., 2006).

Com relação aos efeitos que o óleo de peixe causa sobre as características de fermentação ruminal, os dados disponíveis na literatura são divergentes (PALMQUIST; GRIINARI, 2006; TORAL et al., 2010). E apesar da sugestão de alguns autores de que um dos fatores que favorece a redução no consumo de matéria seca (CMS) em dietas contendo óleo de peixe é a redução na digestibilidade da fibra, o número de informações a este respeito é limitado. Entre os trabalhos revisados está o de Toral et al. (2009) que incubaram feno de alfafa por 12 ou 24 h no rúmen de ovelhas alimentadas sem adição de óleo, ou adicionada com uma mistura de 10g de óleo de peixe + 20g de óleo de girassol/kg de matéria natural por 3 ou 10 dias e não verificaram alteração nas taxas de degradabilidade da fibra em detergente neutro (FDN).

O ácido docosahexaenóico (DHA) é o principal componente do óleo de peixe responsável por inibir a biohidrogenação ruminal do ácido vacênico para esteárico. Entretanto, altas concentrações de ácido linoleico *per se* também diminuem a biohidrogenação do ácido vacênico. Portanto, possivelmente em dietas contendo altos teores de óleo de soja pequenas inclusões de óleo de peixe são suficientes para reduzir a biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados no rúmen e aumentar o fluxo intestinal de C18:1 *trans*-11 e CLA *cis*-9, *trans*-11.

Para testar esta hipótese, foram avaliados os efeitos da inclusão de pequenos teores de óleo de peixe nas dietas, em substituição parcial ao óleo de soja, sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, as características de fermentação ruminal e a biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos.

5.2 Material e Métodos

5.2.1 Animais e instalações experimentais

O experimento foi conduzido nas instalações para estudos metabólicos com ovinos do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, localizada em Piracicaba-SP (22° 42’ 24” S e 47° 37’ 53” O), Brasil.

Foram utilizados cinco borregos F1 (Dorper x Santa Inês) não castrados, com peso médio inicial de $51,7 \pm 3,1$ kg e aproximadamente oito meses de idade, canulados no rúmen e no duodeno. Um mês antes do início do experimento os animais foram preparados cirurgicamente para colocação das cânulas. Após a cicatrização, foram alojados individualmente em gaiolas para ensaios de metabolismo com dimensões de 1,30 X 0,55 m, providas de cocho, bebedouro e sistema para colheita de fezes e urina (Figura 2). As gaiolas foram mantidas em ambiente coberto, ao abrigo da chuva e luz solar direta. Todos os animais foram everminados com 1,0% moxidectin (Cydectin, Fort Dodge Saúde Animal, Campinas, São Paulo, Brasil) na dosagem de 1 mL/50 kg de peso corporal (PC) e receberam aplicação de suplemento vitamínico ADE antes do início do experimento.

Figura 2 – Vista dos animais nas instalações experimentais

5.2.2 Delineamento experimental e tratamentos

O período experimental teve duração de 130 dias, sendo divididos em cinco sub-períodos de 26 dias, dos quais 18 dias foram destinados à adaptação dos animais às dietas experimentais, quatro dias para mensuração do CMS, colheita de fezes e urina, três dias para colheita de conteúdo duodenal e um dia para colheita de conteúdo ruminal. Os animais foram distribuídos em delineamento experimental quadrado latino 5 x 5, com cinco tratamentos e cinco repetições.

Os tratamentos foram definidos pela adição de teores crescentes de óleo peixe (OP) em substituição ao óleo de soja (OS) de modo a perfazerem juntos 4% da MS da ração. Os óleos foram adicionados a dieta base, contendo 90% de concentrado e 10% de volumoso (bagaço de cana-de-açúcar *in natura*). Os tratamentos foram: CONT (controle) – sem adição de óleo; 0P – adição de 4,0% de óleo de soja; 25P – adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja (% da MS); 50P – adição de 0,5% de

óleo de peixe e 3,5% de óleo de soja e 75P – adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja. As dietas experimentais foram formuladas de acordo com as recomendações do NRC (2007). A proporção dos ingredientes e a composição química das dietas estão apresentadas na Tabela 12. A composição de ácidos graxos das dietas e do óleo de soja e óleo de peixe encontra-se na Tabela 13.

5.2.3 Manejo alimentar e colheita de amostras

O milho e a casca de soja foram grosseiramente moídos utilizando-se um moedor (Nogueira[®] DPM – 4, Itapira, Brasil) desprovido de peneira e misturados ao farelo de soja, ureia, calcário, mistura mineral e a monensina sódica (Elanco do Brasil, São Paulo, Brasil) utilizando-se um misturador horizontal com capacidade para 500 kg (Lucato[®], Limeira, Brasil). A monensina sódica foi adicionada na proporção de 25 mg/kg de matéria natural. A mistura dos óleos aos ingredientes concentrados da dieta foi realizada no momento antes do fornecimento. O concentrado + óleo e o bagaço de cana-de-açúcar *in natura* foram pesados separadamente em balança eletrônica de precisão de 1 g (Marte[®], LC 100, São Paulo, Brasil) e misturados diariamente.

Tabela 12 – Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais, % da MS

Item	Tratamentos ¹				
	CONT	0P	25P	50P	75P
Ingredientes					
Bagaço de cana-de-açúcar <i>in natura</i>	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Milho	56,3	51,4	51,4	51,4	51,4
Farelo de Soja	10,0	10,9	10,9	10,9	10,9
Casca de soja	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Ureia	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Cloreto de amônia	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Calcário	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Mistura mineral ²	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Óleo de peixe	-	-	0,25	0,50	0,75
Óleo de soja	-	4,0	3,75	3,50	3,25
Composição química					
Matéria seca, % da MO	83,5	83,6	83,7	83,3	83,8
Matéria orgânica	95,1	94,8	94,3	95,0	95,1
Proteína bruta	16,3	16,5	15,9	16,3	15,8
Carboidratos não fibrosos	45,5	40,7	40,7	41,4	41,4
Fibra insolúvel em detergente neutro	30,5	31,3	31,4	31,0	31,4
Lipídios totais	2,7	6,4	6,4	6,4	6,5

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²Composição: 7,5% P; 13,4% Ca; 1,0% Mg; 7% S; 14,5% Na; 500 ppm Fe; 300 ppm Cu; 4600 ppm Zn; 15 ppm Se.

³n.d. = não detectado.

Tabela 13 – Composição de ácidos graxos das dietas experimentais e do óleo de soja e óleo de peixe

Ácidos graxos, g/100 g	Tratamentos ¹					Óleo de soja	Óleo de peixe
	CONT	0P	25P	50P	75P		
C12:0 (láurico)	0,03	0,01	0,02	0,03	0,03	n.d.	0,10
C14:0 (mirístico)	0,15	0,13	0,17	0,23	0,27	0,08	1,31
C16:0 (palmítico)	15,69	14,46	14,33	14,53	14,56	11,32	12,07
C16:1 (palmitoleico)	0,18	0,14	0,17	0,22	0,25	n.d.	1,29
C18:0 (esteárico)	3,65	3,66	3,67	3,78	3,69	4,05	3,46
C18:1 <i>n</i> -9 (oleico)	32,89	27,46	26,27	26,56	26,27	23,38	21,96
C18:2 <i>n</i> -6 (linoleico)	44,23	48,78	50,34	49,61	49,44	54,79	47,55
C18:3 <i>n</i> -3 (linolênico)	2,07	3,08	3,28	3,31	3,36	4,90	5,19
C20:5 <i>n</i> -3 (EPA - eicosapentaenóico)	n.d. ⁴	n.d.	0,11	0,19	0,29	n.d.	2,86
C22:6 <i>n</i> -3 (DHA - docosahexaenóico)	n.d.	n.d.	0,10	0,19	0,28	n.d.	3,11
Saturados	20,01	18,83	18,51	18,83	18,84	15,64	17,55
PUFA ²	47,51	52,25	54,22	53,70	53,76	60,98	59,06
MUFA ³	1,15	1,45	1,00	0,91	1,13	23,38	23,39
PUFA <i>n</i> -6	45,83	49,14	50,73	50,01	49,83	56,08	47,55
PUFA <i>n</i> -3	2,07	3,08	3,49	3,68	3,93	4,90	11,51

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²PUFA = ácidos graxos poliinsaturados.

³MUFA = ácidos graxos monoinsaturados.

⁴n.d. = não detectado.

Todos os dias do período experimental as rações foram pesadas em balança eletrônica (Marte AC 10K) de precisão e ofertadas *ad libitum* às 7 horas da manhã, no mesmo horário do dia seguinte as sobras foram pesadas para obtenção do CMS por animal. A quantidade de ração ofertada no dia seguinte foi definida com base no

consumo do dia anterior, não se permitindo sobras superiores a 10% da quantidade ofertada.

5.2.4 Fluxo duodenal dos nutrientes

5.2.4.1 Infusão dos marcadores e amostragens

O fluxo duodenal dos nutrientes foi determinado utilizando a técnica de simples marcador. O marcador utilizado foi o óxido crômico, 3 g/dia de óxido crômico foi infundida diretamente no rúmen dos animais em duas doses diárias de 1,5 g cada, as infusões foram realizadas no momento antes do fornecimento das rações, às 7:00 e as 18:00 horas. A infusão do óxido crômico teve início no 17º dia de cada sub-período experimental às 7:00 h e foi interrompida no mesmo horário do 25º dia de cada sub-período, sendo os primeiros cinco dias de infusão (do 17º ao 22º dia) para saturação do trato digestivo com o marcador e os três últimos dias (do 23º ao 25º) para colheita de amostras.

O procedimento utilizado para colheita de amostras da digesta duodenal foi o descrito por Ueda et al. (2003). Durante os três últimos dias de infusão, foram colhidas 16 amostras de 100 mL da digesta duodenal de cada animal. No 23º dia, as colheitas foram realizadas às 9:30 h, 12:30 h, 15:30 h, 18:30 h, 21:30 h e 23:00 h, no 24º dia, às 0:30 h, 2:00 h, 3:30 h, 5:00 h, 6:30 h, 17:00 h e 20:00 h, no 25º às 8:00 h, 11:00 h e 14:00 h. As amostras foram compostas por animal e por sub-período experimental, e armazenadas a -20 °C.

5.2.5 Digestibilidade dos nutrientes, no intestino e no trato digestivo total dos borregos

No 19º, 20º, 21º, 22º, 23º, 24º e 25º dia de cada sub-período experimental, às 7:00 h da manhã a produção fecal total dos animais foi quantificada, e uma amostra representativa de 10% da produção fecal diária foi colhida e armazenada a -20 °C. As fezes colhidas entre o 19º e 22º dia de cada sub-período foram utilizadas para

determinação da digestibilidade dos nutrientes no trato digestivo total, e as colhidas entre o 23º e 25º dia foram utilizadas para o cálculo da digestibilidade dos nutrientes nos intestinos.

5.2.6 Parâmetros ruminais

Amostras do fluido ruminal foram colhidas no 25º dia de cada período experimental. As colheitas foram realizadas na hora 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 após o fornecimento da ração. Em cada horário uma amostra representativa do conteúdo ruminal de cada animal foi colhida via cânula, sendo rapidamente filtrada em tecido de nylon, obtendo-se, aproximadamente 200 mL de fluido ruminal filtrado, que em seguida, foi utilizado para a medição imediata do pH em potenciômetro digital (DIGIMED® DM20, São Paulo, Brasil). A fase sólida do conteúdo ruminal que permaneceu no tecido após a filtragem foi devolvida ao rúmen. Após a determinação do pH, retirou-se 2 alíquotas de 25 mL do fluido ruminal que foram armazenadas em frascos plásticos e congeladas a -20°C para posterior análise de ácidos graxos de cadeia curta total (AGCC) e N amoniacal (N-NH₃).

5.2.7 Análises laboratoriais e cálculos

Depois de descongeladas, as amostras das rações ofertadas e das sobras foram secas em estufa de ventilação forçada a 65 °C por 72 horas. As amostras de conteúdo duodenal e fezes foram liofilizadas. Em seguida todas as amostras foram moídas em moinho tipo Wiley (Marconi, Piracicaba, Brasil) com peneiras com crivos de 1,0 mm. O teor de matéria seca (MS) final das amostras foi determinado por meio da secagem em estufa a 105 °C por 24 h, a matéria orgânica (MO) foi obtida por meio da incineração da amostra em mufla a 550 °C por 4 h (AOAC, 1990). A concentração de N total foi determinada através da combustão da amostra utilizando um aparelho Leco FP528 (Leco Corporation, St. Joseph, MI), conforme a AOAC (1997). Os lipídios totais foram determinados utilizando um aparelho Leco TFE2000 (LECO® Corp.). A concentração de FDN foi determinada segundo Van Soest, Robertson e Lewis (1991), utilizando α -

amilase termoestável e sulfito de sódio, em um aparelho Ankom A2000 (Ankom Tech. Corp., Macedon, NY).

Para determinação dos AGCC; 1,6 mL de fluido ruminal adicionado com 0,4 mL de solução 3:1 de ácido metafosfórico 25% com ácido fórmico 98-100% e 0,2 mL de solução de ácido 2-etil-butírico 100 mM (padrão interno) foram centrifugados (Sorvall Superspeed RC2-B, Newton, CT, EUA) por 15 minutos a 4°C. Após a centrifugação 1,2 mL de cada amostra foi transferido para *vials* cromatográficos. Do extrato obtido injetou-se 1 µL em cromatógrafo gasoso (CG HP 7890A; Injetor HP 7683B, Agilent Technologies) equipado com coluna capilar HP-FFAP (19091F-112; 25 m; 0,320 mm; 0,50 µm; J & W Agilent Technologies). A injeção foi realizada de maneira automática, o gás de arraste foi o H₂, mantido em um fluxo de 31,35 mL/min. A temperatura do injetor e detector foi de 260 °C. O tempo total da corrida cromatográfica foi de 16,5 minutos (min) dividido em três rampas de aquecimento, como segue: 80 °C (1 min), 120 °C (20 °C/min; 3 min), 205 °C (10 °C/min; 2 min). A concentração dos AGCC (mM) foi determinada com base em uma curva de calibração externa.

A concentração de N-NH₃ foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Chaney e Marbach (1962), adaptado para leitura em leitor de microplacas (BIO – RAD, Hercules, CA), utilizando-se filtro para absorbância de 550 nm.

Para o cálculo do consumo de ácidos graxos, biohidrogenação ruminal e digestibilidade nos intestinos, após liofilização, foi determinado o perfil de ácidos graxos das rações ofertadas, das sobras, do conteúdo duodenal e das fezes. Os lipídios totais foram extraídos seguindo a metodologia descrita por Folch et al. (1957). Uma alíquota do extrato de lipídios foi metilada em duas etapas com 2 mL de 0,5M de metóxido de sódio (10 minutos a 50 °C), seguido da adição de HCL metanólico (10 minutos a 80 °C), conforme Kramer et al. (1997) e armazenada a -20 °C em frascos âmbar de 1,5 mL contendo nitrogênio para evitar possível oxidação.

Para a quantificação e determinação dos ácidos graxos foi utilizado um cromatógrafo Agilent Technologies 7890A, equipado com detector de ionização de chama (7683B); e coluna capilar de sílica fundida (J & W 112-88A7, Agilent Technologies), de 100 m de comprimento e 250 µm de diâmetro interno, contendo 0,20 µm de cianopropil policiloxano. A aquisição de dados foi realizada por meio do software

ChemStation (Agilent Technologies). O tempo total da corrida cromatográfica foi 87,5 min divididos em quatro rampas de aquecimento, conforme segue: 70 °C (1 min), 100 °C (5 °C/min; 2 min), 175 °C (10 °C/min; 40 min), 225 °C (5 °C/min) e 245 °C (20 °C/min; 20 min). O H₂ foi utilizado como gás de arraste numa vazão de 1,0 mL/min; a temperatura do injetor e do detector foi de 260 °C. O gás N₂ foi utilizado como *Makeup*, com fluxo de 30 mL/min. A opção *split* em uma relação de 50:1 foi utilizada. A identificação dos ácidos graxos das amostras foi realizada com base no tempo de retenção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos dos padrões. Utilizou-se um padrão de 37 compostos (Supelco mix C4 – C24/n. 18919). E padrões individuais para a identificação dos ácidos graxos C18:0, C18:2 *cis*-9, *trans*-11 e C18:2 *trans*-10, *cis*-12 (Nu-Chek Prep, Elysian, MN).

A concentração do elemento Cromo foi determinada através de EDXRF “fluorescência de raio X por dispersão de energia” pelo Laboratório de Instrumentação Nuclear na Agricultura (CENA-USP).

Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram estimados de acordo com a equação: $CNF (\%) = 100\% - (\% FDN + \% CP + \% \text{Lipídios} + \% MM)$. O NDT foi calculado de acordo com Weiss, Conrad e Pierre (1992) por meio da equação: $NDT (\%) = \% PB_{digestível} + (\% \text{Lipídios}_{digestíveis} \times 2,25) + \% FDN_{digestível} + \% CNF_{digestível}$.

O fluxo da digesta duodenal foi calculado com base na equação: gramas de cromo infundidas/concentração de cromo na MS da digesta duodenal (g/g). O fluxo duodenal dos nutrientes foi obtido multiplicando-se o fluxo duodenal de MS (g/dia) pela concentração de cada nutriente na digesta duodenal. Calculou-se a digestibilidade ruminal por meio da diferença entre o consumo de cada nutriente e seu fluxo duodenal. A digestibilidade no trato intestinal foi obtida pela diferença entre o fluxo duodenal e a excreção fecal de cada nutriente. Por sua vez, a digestibilidade dos nutrientes no trato digestivo total foi calculada subtraindo-se da quantidade consumida de cada nutriente a excreção fecal.

A biohidrogenação ruminal dos ácidos (BHR) graxos C18:1 *cis*-9; C18:2 *cis*-9, *cis*-12; C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15; eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) foi calculada conforme a equação: $BHR = (\text{ácido graxo consumido} - \text{fluxo duodenal do ácido graxo}) / \text{consumo do ácido graxo}$ (LOOR et al., 2004).

5.2.8 Análise estatística

Os dados de características de fermentação ruminal foram analisados como medidas repetidas no tempo usando o procedimento MIXED do SAS (1999), de acordo com o modelo estatístico que segue: $Y = \mu + A_i + T_j + K + T_j * K + P_k + e_{ijkl}$, em que μ = média, A_i = efeito de animal ($i = 1$ a 5), T_j = efeito de tratamento ($j = 1$ a 5), K = efeito de horas após a alimentação, $T_j * K$ = efeito de interação entre tratamentos e horas após a alimentação, P_k = efeito de período ($k = 1$ a 5) e e_{ijk} = erro experimental. A matriz de covariância que melhor se ajustou ao conjunto de dados foi a “autoregressiva” (AR 1). As médias de cada tratamento foram obtidas utilizando o comando LSMEANS. Foram realizados dois contrastes previamente definidos: 1 – dieta controle (CONT) vs dieta contendo 4,0% de óleo de soja (OP); 2 – CONT vs dietas contendo óleo de peixe. Os efeitos dos teores de inclusão de óleo de peixe nas dietas em substituição ao óleo de soja foram avaliados por meio de polinômios ortogonais linear e quadrático. Os efeitos de semana e interação dieta x semana foram definidos pelo teste F da análise de variância.

Os dados de consumo, digestibilidade dos nutrientes, composição de ácidos graxos e biohidrogenação ruminal foram analisados utilizando o procedimento “MIXED” do SAS (1999), de acordo com o modelo: $Y = \mu + A_i + T_j + P_k + e_{ijk}$, em que μ = média, A_i = efeito de animal ($i = 1$ a 5), T_j = efeito de tratamento ($j = 1$ a 5), P_k = efeito de período ($k = 1$ a 5) e e_{ijk} = erro experimental. As médias foram obtidas pelo comando LSMEANS. Os contrastes previamente descritos (dieta controle vs dieta contendo 4,0% de óleo de soja e controle vs dietas contendo óleo de peixe) foram realizados. Os efeitos dos teores de inclusão de óleo de peixe nas dietas em substituição ao óleo de soja foram avaliados por meio de polinômios ortogonais linear e quadrático. Os efeitos foram declarados significativos quando $P < 0,10$.

5.3 Resultados e discussões

O peso corporal médio (PC) dos animais ao longo do período experimental foi: 64,2; 61,5; 63,5; 63,2 e 62,7; para os tratamentos CONT, 0P, 25P, 50P e 75P, respectivamente.

O consumo de MS, e consequentemente de matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), carboidratos não fibrosos (CCNF), fibra em detergente neutro (CFDN) e de lipídios totais (g/dia) não foi afetado ($P > 0,05$) pelos teores de inclusão de óleo de peixe em substituição ao óleo de soja nas dietas (Tabela 14).

Tabela 14 – Consumo e fluxo duodenal dos nutrientes pelos borregos alimentados com as dietas experimentais

Item ⁴	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³			
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*Peixe	L	Q
Consumo, g/dia										
MS	1253	1026	1144	1170	965	57,3	0,20	0,27	0,81	0,29
MO	1196	974	1080	1115	922	54,6	0,19	0,25	0,85	0,30
FDN	389	316	361	366	314	17,6	0,17	0,33	0,99	0,30
CNF	57	42	46	48	40	25,6	0,06	0,06	0,84	0,30
Lipídios totais	34	66	73	74	61	4,5	0,02	< 0,01	0,77	0,31
Nitrogênio total	33	28	29	31	24	1,5	0,25	0,20	0,62	0,31
Fluxo, g/dia										
MS	646	604	630	636	511	33,8	0,75	0,62	0,59	0,51
MO	552	518	540	546	437	30,1	0,78	0,65	0,60	0,52
FDN	187	172	178	181	145	10,7	0,71	0,58	0,62	0,55
CNF	15	11	13	12	11	7,8	0,15	0,15	0,84	0,58
Lipídios totais	38	70	67	71	56	4,2	0,03	0,03	0,46	0,58
Nitrogênio total	28	26	26	29	20	1,7	0,82	0,56	0,50	0,46

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*0P = dieta controle vs dieta contendo óleo de soja; CONT*Peixe = dieta controle vs dietas contendo óleo de peixe (CONT vs 25P, 50P e 75P); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

⁴MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; FDN = fibra insolúvel em detergente neutro; CNF = carboidratos não fibrosos.

Nos contrastes entre a dieta controle e a contendo 4,0% de óleo de soja ou as três dietas contendo óleo de peixe não houve diferença ($P > 0,05$) no CMS, CMO, consumo de nitrogênio total e CFDN (kg/dia). Entretanto, verificou-se menor CCNF ($P = 0,06$) (g/dia) e maior ($P < 0,05$) consumo de lipídios totais pelos animais que receberam as dietas adicionadas com óleo. Nas dietas contendo óleo, 4,0% do milho foi substituído pelas fontes lipídicas (Tabela 12), com consequente redução na concentração de CNF e aumento no teor de lipídios totais, isto justifica os resultados obtidos para o consumo destas frações.

Quando utilizado como fonte única de gordura suplementar, inclusões maiores que 0,8% (SHINGFIELD et al., 2010) ou 1,0% (DONOVAN et al., 2000) de óleo de peixe na dieta (% da MS) reduziram o CMS. Na comparação entre dietas isolipídicas, o fornecimento de 1,0% de óleo de peixe misturado a 1,0% de óleo de soja também reduziu o CMS quando comparado a utilização de 2,0% de óleo de soja como fonte única de gordura (ABUGHAZALEH et al., 2002; WHITLOCK et al., 2002). Entretanto, Whitlock et al. (2006), e o presente experimento (Tabela 14) demonstram que quando utilizado em baixas quantidades associado ao óleo de soja, o óleo de peixe não causa prejuízos ao consumo.

O fluxo intestinal de MS, MO, FDN, CNF e nitrogênio total não foi afetado pelos tratamentos. Entretanto, devido ao seu maior consumo, o fluxo intestinal de lipídios totais aumentou com o fornecimento das dietas contendo óleo (Tabela 14).

A digestibilidade aparente da MS e MO no rúmen (Tabela 15) e no trato digestivo total (Tabela 16) não foi afetada ($P > 0,10$) pelos tratamentos. Contudo, a digestibilidade aparente destas frações no trato intestinal (Tabela 15) foi superior (MS, $P = 0,07$ e MO, $P = 0,06$) pelos animais alimentados com a dieta contendo 4,0% de óleo de soja. Este aumento na digestibilidade, provavelmente foi para compensar o decréscimo não significativo de 12,6% (47,1 vs 41,2%) e 10,8% (52,7 vs 47,0%) na digestibilidade ruminal da MS ($P = 0,19$) e MO ($P = 0,21$), respectivamente, na comparação entre a dieta contendo 4,0% de óleo de soja e a controle. Isto é compatível com a ideia de que altas inclusões de ácidos graxos poliinsaturados na dieta podem contribuir para mudança no sítio de digestão do alimento do rúmen para mais extensiva digestão nos intestinos (JENKINS, 1993).

A digestibilidade da FDN no rúmen, nos intestinos (Tabela 15) e consequentemente no trato digestivo total (Tabela 16) não foi afetada ($P > 0,10$) pelos tratamentos. Altas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados disponíveis no rúmen podem comprometer a digestibilidade da fibra (JENKINS; JENNY, 1989). Em função disso, decréscimos no CMS, comumente observados em resposta à altas inclusões de óleo de peixe na dieta são atribuídos a um efeito negativo dos ácidos graxos poliinsaturados do óleo de peixe sobre a digestibilidade da fibra. Entretanto, os dados do presente experimento não confirmam esta hipótese, e os resultados disponíveis na literatura são consistentes em mostrar que o óleo de peixe não causa prejuízos a digestibilidade desta fração (LEE et al., 2008; SHINGFIELD et al., 2010; TORAL et al., 2009, 2010). Isto indica, que as alterações que o óleo de peixe provoca na microbiota ruminal (BELENGUER et al., 2010) não são suficientes para afetar a digestibilidade da fibra.

Não houve efeito ($P > 0,10$) dos tratamentos sobre a digestibilidade aparente dos CNF no rúmen. Porém, a digestibilidade desta fração nos intestinos apresentou efeito quadrático ($P = 0,06$) em resposta aos teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe (Tabela 15), com decréscimo na sua digestibilidade até o teor de 0,50% de óleo de peixe, seguido de aumento até 0,75% de inclusão de óleo de peixe na dieta (% da MS). Um pequeno, mas significativo aumento ($P = 0,07$) na digestibilidade dos CNF no trato digestivo total foi verificado com o fornecimento da dieta contendo 4,0% de óleo de soja (Tabela 16).

Devido à alta contribuição de nitrogênio microbiano no fluxo de nitrogênio total intestinal, a digestibilidade compartimentada da PB não foi considerada, mas, quando analisada no trato digestivo total (Tabela 16), verificou-se redução em sua digestibilidade com o fornecimento das dietas contendo 4,0% de óleo de soja ($P = 0,09$) ou das dietas adicionadas com óleo de peixe ($P = 0,04$) em comparação à dieta controle. Isto pode ser reflexo de uma menor digestibilidade da PB dietética no rúmen, ocorrida em função de um possível efeito inibidor dos ácidos graxos poliinsaturados do óleo de peixe e óleo de soja sobre o crescimento microbiano ruminal.

Tabela 15 – Digestibilidade ruminal e intestinal dos nutrientes pelos borregos alimentados com as dietas experimentais

Item ⁴	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³			
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*Peixe	L	Q
Digestibilidade ruminal, %										
MS	47,1	41,2	45,1	45,9	45,9	1,78	0,19	0,67	0,37	0,58
MO	52,7	47,0	50,1	51,3	52,2	1,65	0,21	0,68	0,32	0,76
FDN	50,7	45,2	50,6	51,0	53,8	2,15	0,41	0,84	0,28	0,80
CNF	72,3	73,4	71,1	76,1	71,8	0,95	0,67	0,74	0,99	0,55
Lipídios totais	-14,9	-5,3	8,2	4,6	5,8	3,75	0,28	< 0,01	0,20	0,24
Digestibilidade intestinal, %										
MS	62,8	68,4	65,6	64,9	63,9	0,86	0,07	0,42	0,20	0,70
MO	62,1	68,5	65,2	64,7	63,6	0,92	0,06	0,36	0,20	0,68
FDN	32,5	39,5	34,7	32,8	29,4	1,98	0,33	0,96	0,21	0,90
CNF	74,9	77,4	74,9	72,4	80,3	1,11	0,40	0,68	0,59	0,06
Lipídios totais	89,9	89,5	87,9	90,5	89,4	0,60	0,83	0,68	0,75	0,87

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*0P = dieta controle vs dieta contendo óleo de soja; CONT*Peixe = dieta controle vs dietas contendo óleo de peixe (CONT vs 25P, 50P e 75P); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

⁴MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; FDN = fibra insolúvel em detergente neutro; CNF = carboidratos não fibrosos.

Tabela 16 – Digestibilidade dos nutrientes no trato digestivo total dos borregos alimentados com as dietas experimentais

Item ⁴	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³			
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*Peixe	L	Q
Digestibilidade, %										
MS	80,5	80,4	79,4	80,2	80,8	0,40	0,93	0,64	0,56	0,28
MO	82,4	82,2	81,4	82,2	83,0	0,40	0,86	0,81	0,56	0,24
PB	80,3	77,8	77,5	78,4	77,6	0,53	0,09	0,04	0,96	0,83
CNF	95,0	96,7	95,4	95,9	96,4	0,25	0,07	0,24	0,89	0,19
FDN	66,3	66,6	64,9	65,1	68,1	0,88	0,88	0,90	0,54	0,19
Lipídios totais	72,5	83,2	83,7	86,2	85,8	1,24	< 0,01	< 0,001	< 0,05	0,65
NDT (% da MS)	81,2	84,8	83,2	85,0	85,8	0,51	< 0,01	< 0,01	0,19	0,13

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*0P = dieta controle vs dieta contendo óleo de soja; CONT*Peixe = dieta controle vs dietas contendo óleo de peixe (CONT vs 25P, 50P e 75P); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

⁴MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; CNF = carboidratos não fibrosos; FDN = fibra insolúvel em detergente neutro; NDT = nutrientes digestíveis totais.

A digestibilidade aparente dos lipídios totais no rúmen aumentou ($P < 0,01$) com o fornecimento das dietas contendo óleo de peixe (Tabela 15), nos intestinos não houve efeito ($P > 0,10$) dos tratamentos. Entretanto, a digestibilidade aparente desta fração no trato digestivo total foi superior ($P < 0,01$) para os animais alimentados com as dietas contendo óleo, bem como, verificou-se aumento linear ($P < 0,05$) em sua digestibilidade com os teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe (Tabela 16).

Calculando-se o balanço entre o consumo e o fluxo duodenal de lipídios totais, houve uma diferença de -3,9; -3,7; 5,9; 3,3 e 5,9 g/dia para as dietas CONT, 0P, 25P, 50P e 75P, respectivamente. O que reflete a maior participação de lipídios de origem microbiana no fluxo duodenal dos animais que receberam a dieta controle e contendo 4,0% de óleo de soja. Sugerindo que o óleo de peixe inibiu mais o crescimento microbiano no rúmen que o óleo de soja, o que está de acordo com os resultados de Maia, Chaudhary e Figueres (2007) que demonstraram que o efeito tóxico dos ácidos graxos EPA e DHA, presentes em altas quantidades no óleo de peixe (Tabela 13), é superior ao do ácido linoleico. Efeito similar do óleo de peixe sobre o fluxo de lipídios totais no intestino foi recentemente observado por outros autores (DUCKETT; GILLIS, 2010).

Como esperado o NDT (%) das dietas contendo óleo foi superior ($P < 0,01$) ao da dieta controle (Tabela 16), o que deve ser atribuído ao aumento na digestibilidade aparente dos lipídios totais no trato digestivo total.

Não houve interação ($P > 0,10$) entre as dietas experimentais e as horas após alimentação para nenhuma das características de fermentação ruminal avaliadas, com isso, os valores das probabilidades para efeito de horas e de interação entre horas e tratamentos foram removidos da Tabela 17, e serão discutidos apenas os efeitos principais.

A concentração ruminal de acetato, butirato, isovalerato, valerato e consequentemente a dos AGCC totais foi superior ($P < 0,05$) no conteúdo ruminal dos animais alimentados com a dieta controle em relação às dietas contendo óleo (Tabela 17). Em comparação ao tratamento controle, a concentração ruminal de propionato aumentou ($P = 0,07$) com a inclusão de 4,0% de óleo de soja na dieta, mas não foi

afetada ($P > 0,10$) pelo fornecimento de óleo de peixe. A utilização das fontes de óleo reduziu ($P < 0,001$) a relação acetato/propionato. Devido a maior concentração dos AGCC totais, o pH ruminal dos animais alimentados com a dieta controle foi inferior ($P < 0,01$) ao dos animais que receberam óleo (Tabela 17).

Utilizando os dados de CMO (Tabela 14) e a digestibilidade aparente ruminal da MO (Tabela 15), verificou-se que a quantidade de MO digerida no rúmen (644,4; 455,2; 539,8; 569,3 e 484,2 g/dia; para os tratamentos, CONT, 0P, 25P, 50P e 75P, respectivamente) dos animais que receberam a dieta controle foi superior a dos alimentados com a dieta contendo 4,0% de óleo de soja ($P = 0,01$) ou com as dietas contendo óleo de peixe ($P = 0,05$). Isto explica a maior concentração ruminal de AGCC e consequentemente o menor pH ruminal dos animais do tratamento controle. Similar decréscimo ($P < 0,10$) na concentração de AGCC total em resposta a utilização do óleo de peixe foi observado por Toral et al. (2009). A exemplo do verificado no presente experimento, Shingfield et al. (2003) também reportaram aumento no pH ruminal com a inclusão de óleo de peixe na dieta.

Decréscimo na concentração ruminal de acetato é uma resposta frequentemente observada com a adição de óleo de peixe (DOREAU; CHILLIARD, 1997; FIEVEZ et al., 2003; TORAL et al., 2009) ou fontes ricas em ácido linoleico na dieta (ZHANG et al., 2008). O que torna plausível a hipótese de que os ácidos graxos poliinsaturados possam exercer efeito inibidor sobre as bactérias produtoras de acetato (TORAL et al., 2009). Entretanto, estas bactérias são predominantemente fibrolíticas, e no presente experimento, coerentemente com outros autores (LEE et al., 2008; SHINGFIELD et al., 2010; TORAL et al., 2009, 2010) não houve efeito da suplementação com óleo de peixe sobre a digestibilidade da fibra. Além disso, Doreau e Chilliard (1997) verificaram redução na concentração ruminal de acetato, mesmo quando a digestibilidade da FDN foi aumentada em resposta a infusão de 300 mL/dia de óleo de peixe no rúmen de vacas. Mais estudos para melhor compreensão dos motivos pelos quais os ácidos graxos poliinsaturados reduzem a concentração de acetato no rúmen, sem, no entanto, afetar a digestibilidade da fibra são necessários.

Tabela 17 – Concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), amônia e pH ruminal dos borregos alimentados com as dietas experimentais

Item	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³			
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*Peixe	L	Q
AGCC, mM										
Total	119,9	105,2	103,4	105	102,5	2,75	0,03	< 0,01	0,75	0,95
Acetato (C2)	76,8	62,4	63,2	62,9	61,7	1,70	< 0,001	< 0,001	0,84	0,71
Propionato (C3)	25,0	29,0	25,6	28,6	26,4	0,80	0,07	0,30	0,51	0,72
Isobutirato	0,9	0,8	0,9	0,8	0,8	0,04	0,26	0,32	0,80	0,58
Butirato	13,2	10,1	10,8	9,9	10,7	0,34	< 0,001	< 0,001	0,77	0,99
Isovalerato	3,1	2,2	2,1	2,0	2,1	0,08	< 0,001	< 0,001	0,57	0,22
Valerato	0,9	0,8	0,8	0,8	0,8	0,02	< 0,01	< 0,01	0,28	0,92
Relação C2/C3	3,1	2,2	2,6	2,3	2,5	0,05	< 0,001	< 0,001	0,14	0,22
pH	6,1	6,3	6,3	6,3	6,4	0,03	< 0,01	< 0,001	0,23	0,56
Amônia, mg/dL	13,3	10,6	12,2	11,6	12,9	0,30	< 0,01	0,20	0,02	0,83

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*0P = dieta controle vs dieta contendo óleo de soja; CONT*Peixe = dieta controle vs dietas contendo óleo de peixe (CONT vs 25P, 50P e 75P); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

Os animais alimentados com a dieta contendo 4,0% de óleo de soja apresentaram menor concentração de amônia ruminal em comparação aos do tratamento controle. Isto pode ser atribuído a uma menor digestão ruminal da PB pelos animais deste tratamento, o que é compatível com a menor digestibilidade da PB no trato digestivo total (Tabela 16). A concentração de amônia ruminal aumentou linearmente à medida que o óleo de peixe foi incluído nas dietas. Se a hipótese de que os teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe reduziram o crescimento microbiano ruminal for verdadeira, pode-se sugerir que o aumento na concentração de amônia ruminal em resposta a utilização do óleo de peixe foi devido a menor utilização da amônia disponível no rúmen para crescimento microbiano.

Comparada a dieta controle, o fornecimento de 4,0% de óleo de soja aumentou ($P < 0,10$) o consumo de C16:0; C18:0; C18:1 *cis*-9; C18:2 *cis*-9, *cis*-12 e C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15. A utilização do óleo de peixe aumentou o consumo de todos os ácidos graxos avaliados ($P < 0,05$) (Tabela 18). O consumo dos ácidos C12:0, C14:0 ($P = 0,02$) e C16:1 ($P = 0,07$) aumentou de maneira linear em resposta a utilização do óleo de peixe. O consumo dos ácidos C16:0; C18:0; C18:1 *cis*-9; C18:2 *cis*-9, *cis*-12 e C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 não foi afetado ($P > 0,10$) pelos teores crescentes de substituição ao óleo de soja pelo óleo de peixe. Como esperado, o consumo dos ácidos graxos EPA e DHA aumentou linearmente ($P < 0,001$) com os teores crescentes de inclusão de óleo de peixe nas dietas (Tabela 18). As diferenças no consumo dos ácidos graxos são na sua maior parte explicadas pelas alterações que as fontes de óleo provocaram na composição lipídica da dieta (Tabela 13).

Em comparação com a dieta controle, a concentração dos ácidos graxos C14:0 e C16:0 no conteúdo duodenal dos animais que receberam a dieta contendo óleo foi inferior ($P < 0,001$) (Tabela 19). Não houve diferença ($P > 0,10$) na concentração de C18:0 entre os animais alimentados com a dieta controle e os que receberam a dieta contendo 4,0% de óleo de soja, entretanto, o fornecimento de óleo de peixe reduziu ($P < 0,01$) a concentração de C18:0 em relação à dieta controle. A concentração de C18:2 *cis*-9, *cis*-12 não foi afetada ($P > 0,10$) pela utilização das fontes de óleo. A inclusão de óleo nas dietas aumentou ($P < 0,10$) a concentração de C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 e dos

isômeros C18:1 *trans*-11; C18:2 *cis*-9, *trans*-11 e C18:2 *trans*-10, *cis*-12 no conteúdo duodenal.

Tabela 18 – Consumo de ácidos graxos pelos borregos alimentados com as dietas experimentais

Consumo, g/dia	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³			
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*Peixe	L	Q
C12:0 (láurico)	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	0,00	0,21	0,04	0,02	0,08
C14:0 (mirístico)	0,05	0,08	0,12	0,17	0,16	0,01	0,38	< 0,01	0,02	0,40
C16:0 (palmítico)	5,35	9,58	10,40	10,75	8,89	0,64	0,03	< 0,01	0,79	0,38
C16:1 (palmitoleico)	0,06	0,09	0,12	0,16	0,15	0,01	0,31	< 0,01	0,07	0,45
C18:0 (esteárico)	1,24	2,34	2,53	2,69	2,14	0,16	0,02	< 0,01	0,77	0,27
C18:1 <i>n</i> -9 (oleico)	10,89	18,43	19,37	19,75	16,00	1,10	0,07	0,04	0,59	0,42
C18:2 <i>n</i> -6 (linoleico)	13,26	31,84	36,71	36,94	30,63	2,31	0,01	< 0,01	0,87	0,25
C18:3 <i>n</i> -3 (linolênico)	0,71	1,94	2,38	2,46	2,08	0,18	< 0,01	< 0,001	0,69	0,17
C20:5 <i>n</i> -3 (EPA - eicosapentaenóico)	n.d. ⁴	n.d.	0,08	0,14	0,18	0,02	–	< 0,001	< 0,01	0,52
C22:6 <i>n</i> -3 (DHA - docosahexaenóico)	n.d.	n.d.	0,07	0,14	0,17	0,02	–	< 0,001	< 0,01	0,40

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*0P = dieta controle vs dieta contendo óleo de soja; CONT*Peixe = dieta controle vs dietas contendo óleo de peixe (CONT vs 25P, 50P e 75P); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

⁴n.d. = não detectado.

Tabela 19 – Composição de ácidos graxos da digesta duodenal dos borregos alimentados com as dietas experimentais

Ácidos graxos, g/100 g	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³			
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*Peixe	L	Q
C12:0 (láurico)	0,21	0,16	0,09	0,12	0,12	0,02	0,30	0,03	0,69	0,31
C14:0 (mirístico)	1,16	0,47	0,50	0,67	0,65	0,06	< 0,001	< 0,001	0,01	0,55
C16:0 (palmítico)	15,53	13,22	13,51	14,32	14,82	0,22	< 0,01	< 0,01	< 0,001	0,67
C18:0 (esteárico)	57,41	53,28	52,68	45,59	44,34	1,74	0,34	< 0,01	0,04	0,92
C18:1 <i>n</i> -9 (oleico)	6,43	8,68	8,75	9,14	9,11	0,30	0,03	< 0,01	0,47	0,93
C18:2 <i>n</i> -6 (linoleico)	5,97	5,39	5,60	5,53	4,45	0,24	0,52	0,33	0,34	0,34
C18:3 <i>n</i> -3 (linolênico)	0,18	0,27	0,27	0,27	0,23	0,01	0,07	0,06	0,47	0,57
C20:5 <i>n</i> -3 (EPA - eicosapentaenóico)	n.d. ⁴	n.d.	0,01	0,02	0,02	0,00	–	< 0,001	< 0,001	0,96
C22:6 <i>n</i> -3 (DHA - docosahexaenóico)	n.d.	n.d.	0,02	0,02	0,03	0,00	–	< 0,01	< 0,01	1,00
Intermediários da biohidrogenação ruminal										
C18:1 <i>trans</i> - 11 (vacênico)	8,10	16,46	16,48	21,67	25,87	1,67	0,03	< 0,001	0,02	0,64
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 (rumênico)	0,04	0,10	0,12	0,10	0,10	0,01	< 0,01	< 0,001	0,55	0,53
C18:2 <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	0,04	0,06	0,06	0,09	0,09	0,01	0,07	< 0,01	0,04	0,78

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*0P = dieta controle vs dieta contendo óleo de soja; CONT*Peixe = dieta controle vs dietas contendo óleo de peixe (CONT vs 25P, 50P e 75P); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

⁴n.d. = não detectado.

Na comparação entre as dietas isolipídicas, verificou-se aumento linear ($P < 0,05$) na concentração duodenal de C14:0, C16:0; EPA e DHA com os teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe (Tabela 19). A concentração de C18:0 reduziu linearmente ($P < 0,05$) à medida que o óleo de peixe foi incluído nas dietas. Contrapondo, ao aumento linear ($P < 0,05$) na concentração de C18:1 *trans*-11 e C18:2 *trans*-10, *cis*-12 em resposta a utilização do óleo de peixe.

Devido à interdependência entre a composição de ácidos graxos no conteúdo duodenal e o fluxo duodenal de ácidos graxos, as discussões serão realizadas em seguida, na parte de fluxo, ponderando estes dois parâmetros.

O fluxo duodenal de C12:0; C14:0 e C18:2 *cis*-9, *cis*-12 não foi afetado ($P > 0,10$) pelos tratamentos (Tabela 20). Entre a dieta controle e a contendo 4,0% de óleo de soja não houve diferença ($P > 0,10$) no fluxo duodenal de C16:0 e C16:1. Entretanto, verificou-se aumento ($P = 0,06$) no fluxo destes ácidos graxos com o fornecimento das dietas contendo óleo de peixe quando comparadas a controle. A ausência de efeito dos tratamentos sobre o fluxo duodenal de C18:2 *cis*-9, *cis*-12 é reflexo de sua alta biohidrogenação ruminal (Tabela 21).

A inclusão de 4,0% de óleo de soja aumentou ($P < 0,10$) o fluxo duodenal de C18:0; C18:1 *cis*-9; C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15; C18:1 *trans*-11 e dos CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 e C18:2 *trans*-10, *cis*-12, similar aumento ($P < 0,10$) no fluxo duodenal dos ácidos C18:1 *cis*-9; C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15; C18:1 *trans*-11 e dos CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 e C18:2 *trans*-10, *cis*-12 foi verificado com a utilização de óleo de peixe em comparação ao tratamento controle.

Tabela 20 – Fluxo duodenal de ácidos graxos nos borregos alimentados com as dietas experimentais

Fluxo, g/dia	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³			
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT*0P	CONT*Peixe	L	Q
C12:0 (láurico)	0,08	0,11	0,06	0,09	0,09	0,01	0,39	0,92	0,76	0,49
C14:0 (mirístico)	0,44	0,32	0,35	0,49	0,35	0,03	0,18	0,52	0,50	0,26
C16:0 (palmítico)	5,91	9,20	9,05	10,19	8,30	0,57	0,11	0,06	0,83	0,58
C16:1 (palmitoleico)	0,06	0,08	0,08	0,10	0,10	0,01	0,35	0,06	0,27	0,89
C18:0 (esteárico)	21,94	36,57	35,42	32,12	23,06	2,05	0,04	0,13	0,09	0,45
C18:1 <i>n</i> -9 (oleico)	2,37	6,23	5,89	6,51	5,26	0,50	< 0,05	0,04	0,69	0,72
C18:2 <i>n</i> -6 (linoleico)	2,30	4,08	3,82	3,96	2,61	0,36	0,24	0,36	0,38	0,61
C18:3 <i>n</i> -3 (linolênico)	0,07	0,21	0,19	0,19	0,13	0,02	0,07	0,09	0,43	0,75
C20:5 <i>n</i> -3 (EPA - eicosapentaenóico)	n.d. ⁴	n.d.	0,01	0,01	0,01	0,00	–	< 0,001	< 0,001	0,37
C22:6 <i>n</i> -3 (DHA - docosahexaenóico)	n.d.	n.d.	0,01	0,01	0,02	0,00	–	< 0,01	0,01	0,83
Intermediários da biohidrogenação ruminal										
C18: <i>trans</i> -11 (vacênico)	3,11	11,37	10,76	15,34	17,49	1,45	0,02	< 0,001	0,07	0,99
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 (rumênico)	0,02	0,07	0,08	0,07	0,05	0,01	< 0,001	< 0,001	0,05	0,04
C18:2 <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	0,01	0,05	0,04	0,06	0,05	0,01	0,09	0,02	0,53	0,97

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*0P = dieta controle vs dieta contendo óleo de soja; CONT*Peixe = dieta controle vs dietas contendo óleo de peixe (CONT vs 25P, 50P e 75P); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

⁴n.d. = não detectado.

Entre as dietas contendo óleo, verificou-se redução linear ($P = 0,09$) no fluxo duodenal de C18:0, seguida de aumento linear ($P = 0,07$) no fluxo de C18:1 *trans*-11 em resposta a inclusão dos teores crescentes de óleo de peixe. Estes resultados são coerentes com a hipótese de que os ácidos graxos EPA e DHA do óleo de peixe inibem a hidrogenação do C18:1 *trans*-11 a C18:0 (ABUGHAZALEH; JENKINS, 2004; WASOWSKA et al., 2006). Este aumento dose dependente no fluxo duodenal de C18:1 *trans*-11 com os teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe é coerente com os resultados de Wasowska et al. (2006) que demonstraram ser o EPA e DHA mais tóxico à *Butyrivibrio fibrisolvens* (bactéria responsável pela redução do C18:1 *trans*-11 a C18:0) que o ácido linoleico. Aumentos na concentração ruminal de C18:1 *trans*-11 e redução na concentração de C18:0 são efeitos consolidados do fornecimento de óleo de peixe para ruminantes (DUCKETT; GILLIS, 2010; SHINGFIELD et al., 2006, 2011; TORAL et al., 2010).

Entretanto, concordando com a hipótese postulada por Toral et al. (2010), os resultados obtidos na comparação da dieta contendo 4,0% de óleo de soja vs a controle sugerem outro mecanismo de ação do ácido C18:2 *cis*-9, *cis*-12 na biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos poliinsaturados, visto que o maior fluxo duodenal de C18:1 *trans*-11 foi acompanhado por similar aumento no fluxo duodenal de C18:0 (Tabela 20). Outros estudos com o fornecimento de fontes ricas em ácido C18:2 *cis*-9, *cis*-12 para ruminantes verificaram resposta semelhante (ATKINSON et al., 2006; KUCUK; HESS; RULE, 2004; SHINGFIELD et al., 2008).

O fluxo ruminal do CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 apresentou efeito quadrático ($P < 0,05$) à medida que o óleo de peixe foi substituído pelo óleo de soja, com maior valor sendo observado com a inclusão de 0,25% de óleo de peixe associado a 3,75% de óleo de soja. Estes resultados demonstram que uma mínima quantidade de óleo de peixe associada a altos teores de óleo de soja é suficiente para otimizar a síntese ruminal de CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11, indicando que o acúmulo de CLA na carne ou no leite (RAMASWAMY et al., 2001; TORAL et al., 2010; WHITLOCK et al., 2002) em resposta a maiores inclusões de óleo de peixe está na dependência direta da síntese endógena a partir da conversão de C18:1 *trans*-11 em CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 pela enzima esteroil-CoA dessaturase (GRIINARI et al., 2000), visto que, como mencionado

anteriormente, o fluxo de C18:1 *trans*-11 aumentou linearmente com a inclusão de óleo de peixe.

Shingfield et al. (2010) também verificaram efeito quadrático no fluxo duodenal de CLA *cis*-9, *trans*-11 (230, 284, 278 e 212 mg/dia) e aumento linear no fluxo de C18:1 *trans*-11 (21,6; 38,7; 69,5 e 79,1 g/dia) em resposta a inclusão de 0, 8, 16 e 24 g de óleo de peixe/kg de MS como fonte única de gordura suplementar na dieta de bovinos em crescimento. Whitlock et al. (2006) observaram que a síntese de CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 no leite foi otimizada quando incluíram 0,33% de óleo de peixe misturado a 1,66% de óleo de soja. O que sugere que altas inclusões de óleo de peixe na dieta de ruminantes com riscos de prejuízo ao desempenho animal (ANNETT et al., 2009; DONOVAN et al., 2000; KITESSA et al., 2001) são desnecessárias.

Da mesma forma ao observado para o consumo (Tabela 18), o fluxo duodenal dos ácidos graxos EPA e DHA aumentou linearmente ($P < 0,01$) com a utilização do óleo de peixe (Tabela 20). As pequenas concentrações observadas para estes ácidos graxos no conteúdo duodenal são reflexo de suas baixas concentrações no óleo de peixe utilizado (Tabela 13), mas também, das altas taxas de biohidrogenação ruminal (Tabela 21).

Os cálculos para a biohidrogenação ruminal foram realizados para o ácido C18:1 *cis*-9, C18:2 *cis*-9, *cis*-12; C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15, EPA e DHA (Tabela 21). Destes, apenas o C18:1 *cis*-9 teve sua biohidrogenação reduzida com a inclusão das fontes de óleo nas dietas. Os teores crescentes de substituição do óleo de soja pelo óleo de peixe não afetou ($P \geq 0,10$) a biohidrogenação ruminal de nenhum dos ácidos graxos avaliados.

Tabela 21 – Biohidrogenação ruminal de ácidos graxos nos borregos alimentados com as dietas experimentais

Biohidrogenação, %	Tratamentos ¹					EPM ²	Efeito ³			
	CONT	0P	25P	50P	75P		CONT *0P	CONT*Peixe	L	Q
C18:1 <i>n</i> -9 (oleico)	78,9	67,2	69,4	67,2	68,4	0,01	< 0,01	0,01	0,89	0,82
C18:2 <i>n</i> -6 (linoleico)	85,6	87,4	89,8	89,3	91,6	0,01	0,55	0,10	0,24	0,97
C18:3 <i>n</i> -3 (linolênico)	90,2	86,4	92,4	92,2	93,5	0,01	0,46	0,56	0,25	0,55
C20:5 <i>n</i> -3 (EPA - eicosapentaenóico)	n.d. ⁴	n.d.	93,4	91,6	92,1	0,09	—	—	0,43	0,43
C22:6 <i>n</i> -3 (DHA - docosahexaenóico)	n.d.	n.d.	85,2	92,2	89,4	0,09	—	—	0,27	0,16

¹CONT = dieta sem adição de óleo de soja ou óleo de peixe; 0P = adição de 4,0% de óleo de soja; 25P = adição de 0,25% de óleo de peixe e 3,75% de óleo de soja; 50P = adição de 0,50% de óleo de peixe e 3,50% de óleo de soja; 75P = adição de 0,75% de óleo de peixe e 3,25% de óleo de soja.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*0P = dieta controle vs dieta contendo óleo de soja; CONT *Peixe = dieta controle vs dietas contendo óleo de peixe (CONT vs 25P, 50P e 75P); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

⁴n.d. = não detectado.

A biohidrogenação ruminal do C18:2 *cis*-9, *cis*-12 e C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 resulta na formação de CLA, C18:1 *trans*-11 e do produto final C18:0 (HARFOOT; HAZLEWOOD, 1997). Visto que o fluxo ruminal de C18:1 *trans*-11 foi consistentemente aumentado e o de C18:0 reduzido com os teores crescentes de inclusão de óleo de peixe na dieta, era de se esperar decréscimo na biohidrogenação de C18:2 *cis*-9, *cis*-12 e C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15. Esta ausência de efeito deve ser atribuída à complexa dinâmica da atividade metabólica dos microrganismos no rúmen, que envolve as reações de redução de ácidos graxos poliinsaturados, isomerização e síntese *de novo* de ácidos graxos pelas células microbianas, que podem contribuir com o fluxo de ácidos graxos no duodeno.

Similar aumento no fluxo duodenal de CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 e redução no fluxo de C18:0 com a inclusão de óleo de peixe na dieta, sem efeito nas taxas de biohidrogenação ruminal do C18:2 *cis*-9, *cis*-12 e C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 foi reportado por Duckett e Gillis (2010), consistente com os resultados do presente experimento, estes autores também verificaram decréscimo na biohidrogenação ruminal de C18:1 *cis*-9 com a utilização do óleo de peixe.

Os coeficientes de biohidrogenação dos ácidos graxos C18:2 *cis*-9, *cis*-12 e C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 observados (Tabela 21) estão dentro da faixa normalmente reportada na literatura. Valores de referência para biohidrogenação ruminal de C18:2 *cis*-9, *cis*-12 e C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15, são, respectivamente: 79,8 e 81,6; dieta com 0,8% de óleo de peixe (SHINGFIELD et al., 2010) e, 84,5 e 86,7% (DUCKETT; GILLIS, 2010); 90 e 92% (LEE et al., 2005); 86 e 85% (SHINGFIELD et al., 2010) para dietas contendo 1,0% de óleo de peixe.

A biohidrogenação média do EPA e DHA foi de 92,3 e 88,9%, respectivamente. O que é coerente com os resultados de outros autores em estudos *in vivo* (DUCKETT; GILLIS, 2010; LEE et al., 2008; SHINGFIELD et al., 2010), confirmando que estes ácidos graxos são amplamente hidrogenados no rúmen. Em contraste aos resultados *in vitro* em que suas taxas de biohidrogenação são reduzidas (CHOW et al., 2004), o que está relacionado a quantidade de óleo de peixe utilizada, que as vezes é em excesso nos estudos *in vitro* (ABUGHAZALEH; JENKINS, 2004; GULATI; ASHES; SCOTT, 1999). Gulati, Ashes e Scott (1999) demonstraram *in vitro*, que em dose menor que 1

mg de óleo de peixe/mL de fluido ruminal, os ácidos graxos EPA e DHA são extensivamente hidrogenados, e suas taxas de hidrogenação reduzem bruscamente em resposta ao aumento na quantidade de óleo de peixe utilizada.

5.4 Conclusões

Quando associado a altas inclusões de óleo de soja, o fornecimento de uma quantidade mínima de óleo de peixe (0,25% da MS) foi suficiente para otimizar a síntese ruminal de CLA *cis*-9, *trans*-11. Entretanto, é indicada a inclusão na dieta de até 0,75% (% da MS) de óleo de peixe misturado ao óleo de soja para aumentar o suprimento de C18:1 *trans*-11 no duodeno, que pode ser utilizado para posterior síntese endógena de CLA *cis*-9, *trans*-11.

A utilização do óleo de soja como fonte única de gordura suplementar melhorou o perfil lipídico do conteúdo duodenal, mas, a substituição parcial do óleo de soja pelo óleo de peixe mostrou-se uma estratégia mais eficiente.

Referências

ABUGHAZALEH, A.A.; JENKINS, T.C. Disappearance of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids from cultures of mixed ruminal microorganisms. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 3, p. 645-651, 2004.

ABUGHAZALEH, A.A.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; WHITLOCK, L.A. Fatty acid profiles of milk and rumen digesta from cows fed fish oil, extruded soybeans or their blend. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 9, p. 2266-2276, 2002.

ANNETT, R.W.; DAWSON, L.E.R.; EDGAR, H.; CARSON, A.F. Effects of source and level of fish oil supplementation in late pregnancy on feed intake, colostrums production and lamb output of ewes. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 154, n. 3, p. 169-182, 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15th ed. Arlington, 1990. v. 1.

_____. **Official methods of analysis**. 16th ed. Gaithersburg, 1997. 1141 p.

ATKINSON, R.L.; SCHOLLJEGERDES, E.J.; LAKE, S.L.; NAYIGIHUGU, V.; HESS, B.W.; RULE, D.C. Site and extent of digestion, duodenal flow, and intestinal disappearance of total and esterified fatty acids in sheep fed a high-concentrate diet supplemented with high-linoleate safflower oil. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 2, p. 387-396, 2006.

BELENGUER, A.; TORAL, P.G.; FRUTOS, P.; HERVÁS, G. Changes in the rumen bacterial community in response to sunflower oil and fish oil supplements in the diet of dairy sheep. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 7, p. 3275-3286, 2010.

CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 8, p. 130-137, 1962.

CHOW, T.; FIEVEZ, V.; MOLONEY, A.; RAES, K.; DEMEYER, D.; DE SMET, S. Effect of fish oil on in vitro rumen lipolysis, apparent biohydrogenation of linoleic and linolenic acid and accumulation of biohydrogenation intermediates. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 117, n. 1/2, p. 1-12, 2004.

DONOVAN, D.C.; SCHINGOETHE, D.J.; BAER, R.J.; RYALI, J.; HIPPEN, A.R.; FRANKLING, S.T. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in Milk fat from lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 11, p. 2620-2628, 2000.

DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Effects of ruminal or post-ruminal fish oil supplementation on intake and digestion in dairy cows. **Reproduction, Nutrition, Development**, Paris, v. 37, p. 113-124, 1997.

DUCKETT, S.K.; GILLIS, M.H. Effects of oil and fish oil addition on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 8, p. 2684-2691, 2010.

FIEVEZ, V.; DOHME, F.; DANEELS, M.; RAES, K.; DEMEYER, D. Fish oils as potent rumen methane inhibitors and associated effects on rumen fermentation in vitro and in vivo. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 104, n. 1/4, p. 41-58, 2003.

FOLCH, J. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemical**, Bethesda, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H.; CHOUINARD, P.Y.; NURMELA, K.V.V.; BAUMAN, D.E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by delta⁹-desaturase. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, n. 9, p. 2285-2291, 2000.

GULATI, S.K.; ASHES, J.R.; SCOTT, T.W. Hydrogenation of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids and their incorporation into milk fat. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 79, n. 1, p. 57-64, 1999.

HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Ed.). **The ruminal microbial ecosystem**. London: Chapman & Hall, 1997. p. 382-426.

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

JENKINS, T.C.; JENNY, B.F. Effect of hydrogenated fat on feed intake, nutrient digestion, and lactation performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, n. 9, p. 2316-2324, 1989.

KITESSA, S.M.; GULATI, S.K.; ASHES, J.R.; FLECK, E.; SCOTT, T.W.; NICHOLS. Utilisation of fish oil in ruminants. I. Fish oil metabolism in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 89, n. 3, p. 189-199, 2001.

KRAMER, J.K.; FELLNER, V.; DUGAN, M.E.; SAUER, F.D.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of Milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total *trans* fatty acids. **Lipids**, Champaign, v. 32, n. 11, p. 1219-1228, 1997.

KUCUK, O.; HESS, B.W.; RULE, D.C. Soybean oil supplementation of a high-concentrate diet does not affect site and extent of organic matter, starch, neutral detergent fiber, or nitrogen digestion, but influences both ruminal metabolism and intestinal flow of fatty acids in limit-fed lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 10, p. 2985-2994, 2004.

LEE, M.R.F.; TWEED, J.K.S.; MOLONEY, A.P.; SCOLLAN, N.D. The effects of fish oil supplementation on rumen metabolism and the biohydrogenation of unsaturated fatty acids in beef steers given diets containing sunflower oil. **Animal Science**, East Lothian, v. 80, n. 3, p. 361-367, 2005.

LEE, M.R.F.; SHINGFIELD, K.J.; TWEED, J.K.S.; TOIVONEN, V.; HUWS, S.A.; SCOLLAN, N.D. Effect of fish oil on ruminal biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids in steers fed grass or red clover silages. **Animal**, Cambridge, v. 2, n. 12, p. 1859-1869, 2008.

LOOR, J.J.; UEDA, K.; FERLAY, A.; CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. Biohydrogenation, Duodenal flow, and intestinal digestibility of *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage:concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 8, p. 2472-2485.

_____. Intestinal flow and digestibility of trans fatty acids and conjugated linoleic acids (CLA) in dairy cows fed a high-concentrate diet supplemented with fish oil, linseed oil, or sunflower oil. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 119, n.3/4, p. 203-225, 2005.

MAIA, M.R.G.; CHAUDHARY, L.C.; FIGUERES, L. Metabolismo of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. **Antonie Van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 91, n. 4, p. 303-314, 2007.

MOSLEY, E.E.; SHAFFI, B.; MOATE, P.J.; MGGUIRE, M.A. *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid is sythetized directly from vaccenic acid in lactating dairy cattle. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 136, n. 3, p. 570-575, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants:** sheep, goats, cervids, and new world camelids. Washington: National Academic Press, 2007. 292 p.

PALMQUIST, D.L.; GRIINARI, J.M. Milk fatty acid composition in response to reciprocal combination of sunflower and fish oils in the diet. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 131, n. 3, p. 358-369, 2006.

PIPEROVA, L.S.; SAMPUGNA, J.; TETER, B.B.; KALSCHEUR, K.F.; YURAWECZ, M.P.; KU, Y.; MOREHOUSE, K.M.; ERDMAN, R.E. Duodenal and milk *trans* octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of *cis*-9 containing CLA in lactating cows. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 132, n. 6, p. 1235-1241, 2002.

RAMASWAMY, N.; BAER, R.J.; SHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KASPERSON, K.M.; WHITLOCK, L.A. Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 10, p. 2144-2151, 2001.

SAS INSTITUTE. **SAS® user's guide:** statistics, Version 8 Edition. Cary, 1999.

SHINGFIELD, K.J.; REYNOLDS, C.K.; HERVÁS, G.; GRIINARI, J.M. 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**, Champaign, v. 89, n. 2, p. 714-732, 2006.

SHINGFIELD, K.J.; AHVENJARVI, S.; TOIVONEN, V.; VANHATOLO, A.; HUHTANEN, P.; GRIINARI, J.M. Effect of incremental levels of sunflower-seed oil in the diet on ruminal lipid metabolism in lactating cows. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 99, n. 7, p. 971-983, 2008.

SHINGFIELD, K.J.; LEE, M.R.F.; HUMPHRIES, D.J.; SCOLLAN, N.D.; TOIVONEN, V.; REYNOLDS, C.K. Effect of incremental amounts of fish oil in the diet on ruminal lipid metabolism in growing steers. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 104, n. 1, p. 56-66, 2010.

SHINGFIELD, K.J.; AHVENJARVI, S.; TOIVONEN, V.; AROLA, A.; NURMELA, K.V.V.; HUHTANEN, P.; GRIINARI, J.M. Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. **Animal Science**, East Lothian, v. 77, n. 1, p. 165-179, 2003.

SHINGFIELD, K.J.; LEE, M.R.L.; HUMPHRIES, D.J.; SCOLLAN, N.D.; TOIVANEN, V.; BEEVER, D.E.; REYNOLDS, C.K. Effect of linseed oil and fish oil alone or as an equal mixture on ruminal fatty acid metabolism in growing steers fed maize silage based diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, 2011. In press.

TORAL, P.G.; BELENGUER, A.; FRUTOS, P.; HERVÁS, G. Effect of the supplementation of a high-concentrate diet with sunflower and fish oils on ruminal fermentation in sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 81, n. 2, p. 119-125, 2009.

TORAL, P.G.; HERVÁS, G.; GÓMEZ-CORTÉS, P.; FRUTOS, P.; JUÁREZ, M.; FUENTE, M.A. de la. Milk fatty acid profile and dairy sheep performance in response to diet supplementation with sunflower oil plus incremental levels of marine algae. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 4, p. 1655-1667, 2010.

UEDA, K.; FERLAY, A.; CHABROT, J.; LOOR, J.J.; CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage:concentrate rations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 12, p. 3999-4007, 2003.

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**, Champaign, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

WASOWSKA, I.; MAIA, M.R.G.; NIEDZWIEDZKA, K.M.; CZAUDERNA, M.; RAMALHO RIBEIRO, J.M.C.; DEVILLARD, E.; SHINGFIELD, K.J.; WALLACE, R.J. Influence of fish oil on ruminal biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 95, n. 6, p. 1199-1211, 2006.

WEISS, W.P.; CONRAD, H.R.; ST. PIERRE, N.R. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 39, n. 1, p. 95-110, 1992.

WHITLOCK, L.A.; SCHINGOETHE, D.J.; ABUGHAZALEH, A.A.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F. Milk production and composition from cows fed small amounts of fish oil with extruded soybeans. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 10, p. 3972-3980, 2006.

WHITLOCK, L.A.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; BAER, R. J.; RAMASWAMY, N.; KASPERSON, K.M. Fish oil and extruded soybeans fed in

combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 1, p. 234-243, 2002.

ZHANG, C.M.; GUO, Y.Q.; YUAN, Z.P.; WU, Y.M.; WANG, J.K.; LIU, J.X.; ZHU, W.Y. Effect of octadeca carbon fatty acids on microbial fermentation, methanogenesis and microbial flora in vitro. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 146, n. 3, p. 259-269, 2008.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As ovelhas em lactação e os cordeiros em crescimento apresentaram boa aceitação pelas fontes de óleo. Normalmente, uma restrição à utilização de óleo de peixe para animais ruminantes é seu efeito em reduzir o consumo de matéria seca. Em todos os experimentos realizados, dentre as dietas contendo óleo, a inclusão de até 0,75% de óleo de peixe na dieta não reduziu o consumo de matéria seca.

O óleo de peixe utilizado apresentou baixa concentração dos ácidos graxos de maior interesse, eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), ao mesmo tempo em que sua concentração de ácido linoleico foi superior a esperada. Isso leva a crê que na indústria o óleo de peixe foi misturado a uma fonte de óleo vegetal rica em ácido linoleico. É importante ressaltar que esse fato não comprometeu os resultados obtidos nos experimentos realizados, uma vez que veio de encontro com as hipóteses propostas, que foram de avaliar o fornecimento de baixos teores de óleo de peixe e consequentemente de EPA e DHA sobre o desempenho de ovelhas em lactação e de animais em crescimento, bem como, sobre a biohidrogenação e o fluxo intestinal de ácidos graxos.

Tendo em vista que a densidade energética e o consumo de matéria seca foram similares entre as dietas contendo óleo, assim como, não houve diferença na variação de peso corporal e na concentração sanguínea de AGNE das ovelhas. Não são evidentes as razões pelas quais houve aumento linear na produção de leite em resposta aos teores crescentes de substituição do óleo de peixe pelo óleo de soja. A realização de mais estudos com o fornecimento de dietas contendo pequenos teores de óleo de peixe misturado ao óleo de soja é necessária para a consolidação desta resposta.

O aumento na produção de leite das ovelhas e no ganho de peso médio diário dos cordeiros à medida que óleo de peixe foi incluído nas dietas não era esperado, tendo em vista que na maioria dos experimentos, especialmente com vacas em lactação, observaram-se diminuição ou apenas manutenção no desempenho produtivo. Dessa forma, os dados dos experimentos realizados deixam clara a possibilidade de inclusão de até 0,75% de óleo de peixe misturado com até 3,25% de óleo de soja em dietas para ovinos, com ganhos no desempenho produtivo dos animais.

O aumento linear no fluxo intestinal de ácido vacênico evidenciou uma inibição dose dependente da conversão de ácido vacênico a ácido esteárico em resposta a inclusão de até 0,75% de óleo de peixe nas dietas. Visto que o ácido vacênico é o principal precursor para a síntese endógena de CLA, esperava-se que o aumento linear na concentração de ácido vacênico na carne e no leite fosse acompanhado por similar aumento na concentração de CLA, o que não foi observado. Isto é um indicativo de que a enzima Δ^9 -dessaturase tenha uma capacidade de dessaturação limitada.

A inclusão de 0,75% de óleo de peixe na dieta misturado a 3,25% de óleo de soja mostrou-se como a melhor alternativa avaliada, por ter promovido maior produção de leite e carne, assim como, por ter melhorado o perfil lipídico desses produtos. Em conjunto, os resultados obtidos demonstraram real possibilidade de utilização do óleo de peixe misturado ao óleo de soja em dietas para ovinos.