UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

KATIÉLI CAROLINE WELTER

**Efeito da inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em
lactação**

Pirassununga
2015

KATIÉLI CAROLINE WELTER

**Efeito da inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em
lactação**

VERSÃO CORRIGIDA

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

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Saran Netto

Pirassununga
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

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

W464e Welter, Katiéli Caroline
 Efeito da inclusão de óleo de canola na
dieta de vacas em lactação / Katiéli Caroline Welter. --
Pirassununga, 2015.
65 f.
Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Zootecnia.
Área de Concentração: Qualidade e Produtividade
Animal.
Orientador: Prof. Dr. Arlindo Saran Netto.

1. Nutrição 2. Ruminantes 3. Ômega 3 4. Alimento
funcional. I. Título.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Marlice e Nereu, que nunca mediram esforços para que eu pudesse chegar até aqui, seu apoio e amor foi essencial para que eu nunca desistisse.

Ao meu irmão, Laerte, pelo incentivo e apoio sempre.

Ao meu namorado Cristian, que é meu companheiro de todos os momentos, dando-me forças para superar as dificuldades, e comemorando comigo as minhas conquistas, essa também é sua!

A toda minha família e amigos que sempre me incentivaram!

A vocês eu dedico este trabalho!

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, coragem e força sempre.

A Universidade de São Paulo/Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos pela oportunidade e estrutura para estar realizando o mestrado.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão da bolsa e auxílio financeiro para o desenvolvimento deste projeto.

Ao meu orientador, professor Arlindo, pelos ensinamentos, paciência, por acreditar e confiar no meu trabalho.

Aos que me auxiliariam no desenvolvimento da etapa experimental e análises laboratoriais: Cristian, Mellory, Bárbara R, Joyce, Giovana, João (Barba), André (Maréco), Bárbara S., Robertinha, vocês foram essências, ninguém trabalha sozinho, o sucesso só chega aos que trabalham duro e aos que tem uma grande equipe!

Aos funcionários do campus FZEA/USP: João, Vitor, Bala, Tio Zé, Tadeu, Valmir, Coelho, Seu Cláudio, Israel, Dione, Ricardinho e João, pelo auxílio nas atividades cotidianas no período experimental.

Ao pessoal do Ceber: Anderson, Dani, Robertinha, Ana, Fabi, Mad, Juliana, Gisele, André, Raphael, Juan, Henrique, pelo convívio, churrascos e momentos de descontração.

Ao Milton, Arroz e Rômulo, pelo auxílio nas análises sanguíneas.

A Renata, Simi e Ana pelo auxílio nas análises bromatológicas.

A todos os professores da FZEA pelo convívio e aprendizagem durante o período do mestrado.

Ao meu namorado Cristian, que sempre esteve presente e disposto a me ajudar em todas as etapas do mestrado, não medindo esforços para que eu chegasse até aqui. Seu apoio e amor são essências!

A toda a minha família, pela compreensão nos momentos da minha ausência, de não estar presente em datas importantes, mas acredito cada vez mais que todo esforço vai valer a pena! Peço a Deus que eu possa voltar e ficar junto de vocês novamente.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

MUITO OBRIGADA! Sem vocês nada disso seria possível!

Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.

Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes.”

(Marthin Luther King)

*“Aprendi que o sucesso é medido não pela posição que alguém alcança na vida, mas
pelos obstáculos que teve que superar enquanto tentava triunfar.”*

(Booker T. Washington)

RESUMO

WELTER, K.C. **Efeito da inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação.** 2015. 65 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

Objetivou-se com o presente estudo avaliar o efeito da inclusão de níveis de óleo de canola na dieta de vacas em lactação sobre a produção, composição do leite, digestibilidade aparente total, variáveis sanguíneas e ruminais. Foram utilizadas 18 vacas de raça Holandês, com produção média de 22 ($\pm$ 4) kg/dia em estágio intermediário de lactação. As vacas foram distribuídas em delineamento quadrado latino, com 6 quadrados contemporâneos, 3 períodos e 3 tratamentos: T1= dieta controle (sem adição de óleo); T2= inclusão de 3% de óleo de canola na dieta e T3= inclusão de 6% de óleo de canola na matéria seca da dieta. A inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação reduziu linearmente a produção de leite em 2,51 kg/vaca/dia, ácidos graxos saturados em 20,24%, relação $\omega 6/\omega 3$ em 39,45%, índice de aterogenicidade em 48,36%, índice de trombogenicidade em 39,86% no leite, o consumo de MS em 2,25kg/d, FDN em 0,87kg/dia, PB em 0,45kg/dia, a digestibilidade da FDN em 5% no tratamento 6% quando comparado ao tratamento controle. Ao incluir 6% de óleo de canola na dieta das vacas houve um aumento linear na concentração no leite de ácidos graxos insaturados em 34,08%, $\omega 3$ em 115%, ácido rumênico (CLA) em 16,50%, ácido oleico em 44,87% e o índice h/H em 94,44% em comparação ao tratamento controle. O colesterol, HDL e LDL sanguíneos aumentaram linearmente conforme a inclusão do óleo em 34,88 mg/dL, 11,69 mg/dL e 23,98 mg/dL respectivamente, do tratamento 6% em relação ao controle. Não houve efeito da inclusão do óleo de canola sobre o pH ruminal, concentração de nitrogênio amoniacal e ácido propiônico. As variáveis ácido acético, butírico e a relação acético/propiônico, reduziram linearmente conforme a inclusão do óleo de canola. A inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação reduz o consumo, produção de leite e a gordura do leite, porém aumenta a concentração de ácidos graxos benéficos para a saúde humana como CLA, $\omega 3$ e ácido oleico. O óleo de canola não causa problemas à saúde das vacas, pois as variáveis sanguíneas e ruminas estão dentro da normalidade para vacas em lactação.

Palavras-chave: nutrição, ruminantes, $\omega 3$, alimento funcional.

ABSTRACT

WELTER, K.C. **Effect of canola oil inclusion in diets of lactating dairy cows.** 2015. 65 f. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

The aim of this study was to evaluate the effect of canola oil inclusion in the diet of dairy cows on milk yield and composition, total apparent digestibility, blood and ruminal variables. Were used 18 Holstein cows averaging 22 ($\pm$ 4) kg/day of milk yield in the middle stage of lactation. The cows were distributed in a Latin square design, with 6 contemporary square, 3 periods and 3 treatments: T1 = control diet (without inclusion of oil); T2 = inclusion of 3% canola oil in the diet and T3 = inclusion of 6% canola oil in the diet (dry matter bases). The inclusion of canola oil in the diet of lactating cows linearly reduced milk yield by 2.51 kg/cow/day, milk concentrations of saturated fatty acid by 20.24%, omega6/omega3 ratio by 39.45%, atherogenicity index by 48.36%, thrombogenicity index by 39.86%, dry matter intake by 2,25kg/d, and ingestion of NDF by 0,87kg/day and CP by 0,45kg/day; and NDF digestibility by 5% in treatment 6% when compared with 0% treatment. With inclusion 6% canola oil in the diet of dairy cows was observed a linear increase in milk concentration of unsaturated fatty acids by 34.08%, omega-3 by 115%, rumenic acid (CLA) by 16.50%, oleic acid by 44.87% and the h/H index by 94.44%, when compared with control diet. The blood concentrations of total cholesterol, HDL and LDL linearly increased in 34.88 mg/dL, 11.69 mg/dL, and 23.98 mg/dL, respectively, according to inclusion of canola oil from 0 to 6% in the diet. No effect of inclusion of canola oil was observed on ruminal pH, and concentrations of ammonia nitrogen and propionic acid. The variables acetic and butyric acids, and acetic/propionic ratio, were linearly reduced with inclusion of canola oil. The inclusion of canola oil in the diet of lactating cows reduces the dry mater intake, milk yield and fat content, but increases the milk concentration of fatty acids with human health benefits, as CLA, omega-3 and oleic acid. Canola oil does not cause problems to health of cows, as blood and ruminal variables are within normal ranges for lactating cows.

Key-words: nutrition, ruminants, omega 3, functional food.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema representativo da síntese do CLA (C18:2 *cis*9 *trans*11) em ruminantes. O quadro a esquerda representa a via metabólica ocorrida no rúmen e o da direita a via metabólica que ocorre na glândula mamária ou tecido adiposo. Adaptado de Bauman e Griinari (2001)..... 22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ingredientes e composição química das dietas experimentais.	32
Tabela 2 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre o consumo de matéria seca e dos nutrientes.	37
Tabela 3 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre a digestibilidade aparente total (%) da matéria seca e dos nutrientes.	38
Tabela 4 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre a eficiência produtiva (EP), escore de condição corporal e peso corporal.	39
Tabela 5 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre variáveis sanguíneas.	41
Tabela 6 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre a fermentação ruminal.	42
Tabela 7 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre a proporção (%) de ácidos graxos de cadeia curta do total de ácidos graxos.	43
Tabela 8 - Ingredientes e composição química das dietas experimentais.	51
Tabela 9 - Composição de ácidos graxos (% do total de ácidos graxos) das dietas experimentais.	53
Tabela 10 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre a produção e composição do leite.	58
Tabela 11 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre o perfil de ácidos graxos do leite (g/100g AG).	59
Tabela 12 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre a qualidade nutricional da fração lipídica do leite (g/100g AG).	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Ácido graxo
AGCC	Ácido graxo de cadeia curta
AGCL	Ácido graxo de cadeia longa
AGCM	Ácido graxo de cadeia média
AGI	Ácido graxo insaturado
AGMI	Ácido graxo monoinsaturados
AGNE	Ácidos graxos não esterificados
AGPI	Ácido graxo poliinsaturados
AGS	Ácido graxo saturado
AST	Aspartato aminotransferase
BHB	Betahidroxibutirato
CCS	Contagem de células somáticas
CD	Coeficiente de digestibilidade
CK	Creatinina quinase
CNF	Carboidrato não fibroso
CT	Carboidrato total
GB	Gordura bruta
EE	Extrato etéreo
EL ₁	Energia líquida de lactação
ESD	Extrato seco desengordurado
FDA	Fibra em detergente ácido
FDAi	Fibra insolúvel em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
h/H	Relação Hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos
IA	Índice de Aterogenicidade
Iso-But	Isobutírico
Iso-Val	Isovalérico
IT	Índice de Trombogenicidade
LACT	Lactose
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
NDT	Nutrientes digestíveis totais

N-NH ₃	Nitrogênio amoniacal
N-Ureico	Nitrogênio ureico
NUL	Nitrogênio ureico do leite
PB	Proteína bruta
PL	Produção de leite
PLC	Produção de leite corrigida para 3,5%
SOD	Superóxido desmutase
ST	Sólidos totais

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 Alimentos funcionais.....	16
2.2 Óleo de canola	18
2.3 Produção e Composição do Leite	20
2.4 Perfil de Ácidos Graxos do Leite	21
Referências Bibliográficas.....	24
3. CAPÍTULO I. Inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação e seus efeitos sobre o metabolismo	28
Resumo	28
3.1 Introdução.....	29
3.2 Material e Métodos.....	30
3.2.1 Animais, manejo e instalações	30
3.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e dieta.....	31
3.2.3 Análise bromatológica e digestibilidade aparente total.....	32
3.2.4 Pesagem dos animais e escore de condição corporal	33
3.2.5 Variáveis sanguíneas e ruminais	34
3.2.6 Análise estatística	35
3.3 Resultados e Discussão.....	36
4.4 Conclusão	44
Referências Bibliográficas.....	44
4. CAPÍTULO II. Inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação e seus efeitos sobre a produção e composição do leite.....	47
Resumo	47
4.1 Introdução.....	48
4.2 Material e Métodos.....	50
4.2.1 Animais, manejo e instalações	50
4.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e dieta.....	50
4.2.3 Produção e amostras de leite	51
4.2.4 Perfil de ácidos graxos dos alimentos e do leite.....	52

3.2.5 Análise estatística	54
3.3 Resultados e Discussão.....	55
3.4 Conclusão	64
Referências Bibliográficas.....	64

1. INTRODUÇÃO

A sociedade moderna tornou-se tão tecnificada que a praticidade no preparo das refeições é um parâmetro importante no atual mundo globalizado. No entanto, uma vida agitada e alimentação pouco saudável associadas ao sedentarismo podem acarretar no desenvolvimento de uma série de doenças.

Doenças não transmissíveis são a maior causa de mortalidade no mundo, sendo elas as doenças cardíacas, derrame, câncer, doenças respiratórias crônicas e diabetes. Entre os fatores de risco que desencadeiam essa série de doenças podem ser mencionados o uso de tabaco, álcool, dieta insalubre, atividade física insuficiente, obesidade, pressão arterial elevada, aumento do açúcar e do colesterol no sangue. No Brasil, cerca de 514 a cada 100.000 pessoas morreram por doenças não transmissíveis entre os anos de 2002 e 2012. No entanto, cerca de 80% das doenças do coração, acidente vascular cerebral e diabetes podem ser prevenidas, como informa a Organização Mundial da Saúde (2014).

Mudanças no estilo de vida são importantes para reduzir o risco de desenvolver doenças. Assim, desenvolver produtos específicos, como lácteos diferenciados com propriedades funcionais, torna-se um novo desafio para pesquisadores da área da bovinocultura leiteira, onde há a necessidade de melhorar cada vez mais a qualidade do leite produzido para o mercado consumidor. Produzir alimentos diferenciados pode ser uma alternativa para aumentar a rentabilidade da cadeia produtiva do leite, principalmente no Brasil, que ainda há condições de aumentar produção e qualidade.

Os alimentos funcionais apresentam propriedades benéficas à saúde, além das nutricionais básicas. São apresentados na forma de alimentos comuns, sendo consumidos em dietas convencionais, porém demonstram capacidade de regular funções corporais de forma a auxiliar na proteção contra determinadas doenças como hipertensão, diabetes, câncer e osteoporose (SOUZA; SOUZA NETO; MAIA, 2003). Esses alimentos podem trazer benefícios fisiológicos específicos, graças à presença de nutrientes fisiologicamente bioativos, sendo alguns exemplos de isômeros relacionados a prevenção de determinadas doenças o ácido linoleico conjugado (CLA), ômega 3 e o ácido oleico.

A suplementação com óleos vegetais ou grãos de oleaginosas na dieta de vacas leiteiras resulta em maiores teores de ácidos graxos de cadeia longa na gordura do leite

(TANAKA, 2005). A semente de canola (*Brassica napus*) contém aproximadamente 40,5% de óleo (LARDY et al., 1993). É rica em ácidos graxos insaturados como os ácidos oleico (C18:1 *cis*-9), linoleico (C18:2 n-6) e linolênico (C18:3 n-3), possuindo teores de proteína bruta acima de 20% na semente integral (RULE; BUSBOOM; KERCHER, 1994; BETT et al., 1999).

A utilização da canola para ruminantes, segundo Lough et al. (1992), promove um decréscimo dos teores de ácidos graxos palmítico (C16:0) e palmitoleico (C16:1) e aumento dos ácidos graxos esteárico (C18:0), oléico (C18:1), linoléico (C18:2) e gadoleico (C20:1). O ácido graxo linoleico (C18:2 n-6) e seus derivados que formam a família dos ácidos graxos ômega 6, e principalmente o ácido graxo linolênico (C18:3 n-3) e seus derivados que formam a família dos ácidos graxos ômega 3, são considerados essenciais, uma vez que a síntese destes somente é possível em organismos vegetais (LEHNINGER, 1990; ANDRADE, 1994).

O uso de lipídios aumenta a densidade energética das rações, podendo proporcionar diversos benefícios nutricionais como atender a alta demanda energética, melhorando a eficiência energética de produção de leite (SMITH, 1990). Entretanto, o excesso de lipídios na dieta dos ruminantes, principalmente quando possui alto teor de ácidos graxos insaturados, pode reduzir a fermentação ruminal e o crescimento microbiano, como também, alterar a composição do leite. Esta redução pode ser em razão de um efeito da gordura sobre as fibras, impedindo a aderência bacteriana e o acesso das enzimas fibrolíticas ao seu substrato, ou ainda, a um efeito tóxico dos ácidos graxos insaturados sobre as células bacterianas. O processo ocorrido no rúmen, a biohidrogenação, é uma forma de defesa natural dos micro-organismos ruminais contra a toxicidade das gorduras insaturadas, os quais convertem a gordura insaturada em saturada, que é menos tóxica (KOZLOSKI, 2002).

Em função da escassa literatura sobre o óleo de canola para vacas em lactação, denota-se a importância de desenvolver mais pesquisas voltadas a essa área. Assim, objetivou-se com o presente estudo avaliar o efeito da inclusão de níveis de óleo de canola na dieta de vacas em lactação sobre a produção e composição do leite, digestibilidade aparente total, variáveis sanguíneas e ruminais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Alimentos funcionais

Naturalmente, todos os alimentos são funcionais, uma vez que nos proporcionam sabor, aroma e valor nutritivo. Entretanto, nas últimas décadas, o termo funcional está sendo aplicado a alimentos com uma característica diferenciada, a de proporcionar um benefício fisiológico adicional, além das qualidades nutricionais básicas encontradas. Reduzir riscos de doenças e manutenção da saúde é um dos principais objetivos de um alimento funcional (ANJO, 2004).

A portaria nº. 398 de 30/04/99 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA) fornece a definição legal de alimento funcional: *“todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica.”*

Os alimentos e ingredientes considerados funcionais podem ser classificados de dois modos: quanto à fonte, de origem vegetal ou animal, ou quanto aos benefícios que oferecem, atuando em seis áreas do organismo: no sistema gastrointestinal; no sistema cardiovascular; no metabolismo de substratos; no crescimento, no desenvolvimento e diferenciação celular; no comportamento das funções fisiológicas e como antioxidantes (SOUZA; SOUZA NETO; MAIA, 2003).

Dentre os componentes dos alimentos funcionais estão: as fibras dietéticas, açúcares alcoólicos ou açúcares de baixa energia, aminoácidos, ácidos graxos insaturados, fitoesteróis, vitaminas e minerais, antioxidantes, bactérias ácido-láticas e outras substâncias excitantes ou tranquilizantes. Entre os componentes supracitados, pode-se destacar os ácidos graxos insaturados (mono e poliinsaturados). Dentre os ácidos graxos monoinsaturados, o mais representativo é o ácido oleico, característico do óleo de canola, azeite de oliva, do abacate e das azeitonas. Esse ácido protege o sistema cardiovascular, reduz os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e aumentam as lipoproteínas de alta densidade (HDL) (ARABBI, 2001).

Os ácidos graxos poliinsaturados, destacando as séries ômega 3 e 6, são encontrados em peixes, óleos vegetais como sementes de linhaça, nozes, entre outros

vegetais. Além de seu papel nutricional na dieta, os ácidos graxos ômega 3 podem ajudar a prevenir uma série de doenças, incluindo doenças do coração, câncer, artrite, depressão, mal de Alzheimer, também atua na redução do colesterol sanguíneo. Os ômega 6, derivados do ácido linoleico, exercem importante papel fisiológico: participam da estrutura de membranas celulares, influenciando a viscosidade sanguínea, permeabilidade dos vasos, pressão arterial, reação inflamatória e funções plaquetárias (MORAES, COLLA, 2006).

Assim como os ácidos graxos ômega 3 e ômega 6, que são essenciais para nosso organismo, pois o organismo humano não tem capacidade de produzi-los, a relação ômega 6/ômega 3 também é de vital importância para a saúde. Estima-se que a relação ômega 6/ômega 3 da dieta dos seres humanos que viveram no período que antecedeu a industrialização era em torno de 1:1 a 2:1, devido ao consumo abundante de vegetais, e de alimentos de origem marinha, contendo uma grande quantidade de ácidos graxos ômega 3. Com a industrialização essa relação foi aumentando, devido ao consumo de óleos com alto teor de ômega 6 e o excessivo consumo de alimentos industrializados e à diminuição da ingestão de frutas, verduras, peixes, resultando em dietas com quantidades reduzidas de ácidos graxos ômega 3. Em diversos países tem-se registrado a relações ômega 6/ômega 3 nas dietas consumidas entre 10:1 a 20:1, havendo incidência de até 50:1 (SIMOPOULOS, 2002; SIMOPOULOS, 2004).

A necessidade de diminuir a relação ômega 6/ômega 3 nas dietas atualmente tem sido indicada devido aos resultados de alguns estudos clínicos realizados. Quando a relação ômega 6/ômega 3 da dieta foi de 4:1 houve redução de 70% na taxa de mortalidade em pacientes com doença cardiovascular, 3 a 4:1 houve redução nas inflamações decorrentes da artrite reumatoide e 5:1 diminuição dos sintomas decorrentes da asma. Quando a relação foi de 10:1 os sintomas foram intensificados (LORGERIL et al., 1994; BROUGHTON et al., 1997).

O ácido oleico (C18:1 *cis*9) também é um ácido graxo importante que está presente na gordura do leite. O ácido oleico pode reduzir a pressão arterial através da atividade de receptores adrenérgicos que ajudam a regular a pressão arterial (TERES et al., 2008), auxilia na perda de peso, pois segundo Lim et al. (2013) o ácido oleico aumenta a expressão de genes envolvidos na queima de gordura.

Em estudo realizado por De Silva et al. (2014) pessoas que consumiram maiores quantidades de ácido oleico tiveram 89% menos chance de desenvolver colite ulcerativa do que aquelas que consumiram menores quantidades de ácido oleico. O

ácido oleico também apresenta um efeito benéfico na diabetes do tipo II revertendo os efeitos negativos das citocinas inflamatórias observadas na obesidade e diabetes não dependentes de insulina (VASSILIOU et al., 2009). O ácido oleico também substitui outros ácidos graxos ômega nas membranas celulares, sendo menos suscetível a danos da oxidação do que ácidos graxos ômega 3 e ômega 6, protegendo membranas celulares dos radicais livres e outros fatores de estresse oxidativo (HAUG, HØSTMARK, HARSTAD, 2007).

Outro ácido graxo importante na saúde humana, componente natural dos produtos alimentares derivados de ruminantes é o ácido linoleico conjugado (CLA – C18:2 *cis*9 *trans*11). Este apresenta evidências sobre os benefícios contra o câncer. Os estudos que avaliaram o consumo de produtos lácteos ricos em CLA, como queijo, têm mostrado uma associação inversa com câncer de mama e câncer colo retal entre as mulheres. Os modelos animais sugerem que os mecanismos dos efeitos anticancerígenos de CLA incluem a modulação da produção de eicosanoides, a interferência em vias de sinalização celular, a inibição da síntese de DNA, a promoção de apoptose, e modulação de angiogênese (DILZER, PARK, 2012). Em revisão realizada por Ing e Belury (2011) os mesmos evidenciam que dados pré-clínicos indicam um efeito benéfico do CLA sobre a saúde óssea.

Novas evidências afirmam que a gordura *trans*, que está naturalmente presente no leite e carne de ruminantes, é benéfica para a saúde cardiovascular. Os resultados de estudos com animais indicam que o CLA também apresenta propriedades antiateroscleróticas. O CLA melhora o perfil de lípidos no sangue através da redução do colesterol total, dos triglicerídeos, LDL e melhorar os níveis HDL (DILZER, PARK, 2012).

2.2 Óleo de canola

A canola (*Brassica napus* L.) recebeu este nome devido à sigla canadense *canadian oil low acid*. É uma variedade geneticamente modificada da colza, diferenciando-se desta por conter menos de 2% de ácido erúico e o componente sólido da semente conter menos de 30 micromoles de glucosinolatos (TOMM, 2005).

É o terceiro grão de maior importância econômica no mundo, sendo seu cultivo consolidado no Brasil há pouco mais de sete anos. A canola é conhecida como “soja de

inverno”, pois também produz óleo, e tem grande liquidez no mercado e preço de venda equivalente à soja. O cultivo de canola reduz a ocorrência de doenças, contribuindo para que o trigo semeado no inverno subsequente produza mais e tenha melhor qualidade e menor custo de produção (EMBRAPA TRIGO, 2014).

Para o agricultor brasileiro a canola constitui uma alternativa para diversificação de culturas de inverno e geração de renda pela produção de grãos, com semeadura da canola no outono-inverno (semeadura entre 15 de abril a 30 de junho no Rio Grande do Sul) ou na safrinha (semeadura em fevereiro a março) na região Centro-Oeste. Com estas características positivas, o cultivo da canola tende a aumentar no Brasil, tanto pela elevada disputa pelo produto no mercado brasileiro e europeu, como por ser uma ótima opção econômica para o agricultor brasileiro (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2012).

Assim como os óleos de soja, milho e girassol, o óleo da canola é usado na alimentação humana. O óleo de canola é um dos mais saudáveis, pois possui elevada quantidade de ômega 3 (reduz triglicerídeos, controla arteriosclerose, redução do agrupamento de plaquetas e aumento no tempo de coagulação, que apresenta efeitos antitrombose e anticoagulante), vitamina E (antioxidante que reduz radicais livres), gorduras monoinsaturadas (reduzem LDL) e o menor teor de gordura saturada (controle do colesterol) de todos os óleos vegetais. Médicos e nutricionistas indicam o óleo de canola como o de melhor composição de ácidos graxos para as pessoas interessadas em dietas saudáveis. O perfil dos ácidos graxos no óleo de canola tem um efeito protetor contra os padecimentos coronarianos (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2012).

A canola é um alimento rico em proteína bruta (21 a 25,5%) (BAIER, ROMAN, 1992; BETT et al., 1999) e possui uma variação de 40% a 50% de gordura, constituída primariamente por ácidos graxos insaturados, como ácido oleico (51%), linoleico (25%) e linolênico (14%), esses ácidos graxos são essenciais para o organismo humano, já que não podem ser sintetizados no organismo, devendo, portanto, ser incluídos na dieta alimentar.

No âmbito destas características benéficas do óleo de canola, busca-se o enriquecimento dos produtos de origem animal através da adição do óleo de canola na dieta, principalmente de vacas leiteiras, modificando o perfil de ácidos graxos do leite, melhorando a qualidade do leite produzido. O leite apresenta uma grande demanda do mercado consumidor, que está cada vez mais exigente quando o assunto é qualidade dos alimentos e qualidade de vida, mesmo que seja mais oneroso.

2.3 Produção e Composição do Leite

A utilização de lipídios na dieta de vacas em lactação, iniciou-se primeiramente com o objetivo de aumentar a densidade energética da dieta, evitando a redução do escore de condição corporal para vacas pós-parto, aumentando produção de leite, e melhorando a taxa de prenhez. No entanto, o objetivo do uso de lipídios não é mais somente mais este, mas sim fornecer lipídios para vacas em qualquer fase da lactação para melhorar a qualidade do leite produzido.

O leite bovino é uma secreção nutritiva composta por vários nutrientes sintetizados na glândula mamária, a partir de precursores derivados da alimentação e do metabolismo animal (RODRIGUES, 2011). O leite é composto por água, proteína, gordura, lactose, vitaminas e sais minerais, sendo assim considerado um alimento nobre e de elevado valor nutritivo, essencial principalmente para os neonatos.

Diversos estudos têm sido realizados com o intuito de modificar a composição do leite, mais especificamente a gordura, que é o componente de mais fácil modulação. No entanto, a composição do leite vai depender de alguns fatores como a dieta fornecida, fase de lactação e a raça do animal. Dentre alguns estudos, podemos mencionar o trabalho DePeteres et al. (2001) o qual adicionaram óleo de canola para vacas em lactação para avaliar a produção e composição do leite. Os tratamentos do trabalho foram: t1=controle, t2=1,6% de óleo de canola na dieta, t3=330g de óleo de canola infusão ruminal e t4=330g de óleo de canola infusão abomasal. Houve aumento no consumo de matéria seca (t1=18,0; t2=19,6; t3=19,5 e t4=17,7 kg/dia) e consequentemente da produção de leite (t1=25,0; t2=28,6; t3=29,0 e t4=26,6 kg/dia) nos tratamentos t2 e t3, no entanto, houve redução do teor de gordura (t1=3,69; t2=3,50; t3=3,40 e t4=3,83 kg/dia) nos mesmos tratamentos. Os demais tratamentos não apresentaram diferença entre si.

Nicolae, Smaranda, Dragomir (2008) realizaram um estudo com óleo de canola (10,4%) e sementes de canola (10,4% de inclusão no concentrado da dieta), com proporção volumoso/concentrado de 63/37. O consumo de matéria seca e a produção de leite não apresentaram diferença entre os tratamentos. No entanto, a produção (kg/dia) e o teor (%) da gordura (controle=864; 3,92; óleo de canola= 774; 3,44 ; e sementes de canola = 769; 3,53) do leite tiveram diferença entre os tratamentos, sendo valores do tratamento controle os mais elevados, e os demais apresentaram redução, porém não

diferiam entre si. A produção e teor de proteína não apresentaram diferença entre os tratamentos.

Em revisão de literatura realizada, a maioria dos trabalhos sobre canola utilizam-na na forma de sementes ou farelo, há poucos trabalhos relatados com o uso do óleo. Nos estudos acima mencionados observou-se aumento do consumo e produção de leite, porém na maioria das variáveis analisadas não foi observada diferença entre os tratamentos, apenas a gordura do leite, pois é uma variável de fácil modulação. A quantidade de extrato etéreo utilizado nas dietas experimentais geralmente é baixa, em torno de 6%, que vai de encontro ao que a literatura sugere, que até 7% de EE na dieta não causa redução no consumo, digestibilidade e produção de leite.

2.4 Perfil de Ácidos Graxos do Leite

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos com cadeias hidrocarbonas, com comprimento variando entre 4 e 36 carbonos (sendo classificados como cadeia curta, média e longa), com um grupo metil (CH_3) em uma extremidade e um grupo carboxil (COOH) na outra (NELSON, COX, 2002). Os ácidos graxos apresentam-se normalmente com número par de átomos de carbono, podendo ser saturados (não contém duplas ligações entre carbonos) ou insaturados (uma ou mais duplas ligações na cadeia carbônica). Entre os ácidos graxos insaturados pode-se mencionar os ácidos graxos monoinsaturados (uma insaturação) e os ácidos graxos poliinsaturados (com duas ou mais insaturações) (APPOLINÁRIO et al., 2011).

A nomenclatura dos ácidos graxos é feita a partir da numeração da cadeia carbônica do último carbono do ácido graxo (chamado ômega). Nos ácidos graxos insaturados a isomeria em torno da dupla ligação determina se a configuração é *cis* (radicais no mesmo plano) ou *trans* (radicais em lados opostos). Os ácidos graxos insaturados de ocorrência natural nos alimentos possuem configuração *cis*. A maioria dos ácidos graxos de configuração *trans* não é encontrada na natureza, mas somente produtos de origem animal ou artificial. Os ácidos graxos *trans* de origem animal são formados devido a ação dos microrganismos sobre os ácidos graxos através da biohidrogenação ruminal e pela formação de ácidos graxos de cadeia longa na glândula mamária pela ação das enzimas dessaturase. A formação artificial de ácidos graxos *trans* é através da adição parcial de átomos de hidrogênio nos locais das duplas ligações,

conservando algumas duplas ligações da molécula original, podendo formar isômeros, mudando da configuração *cis* para *trans* (GRAZIOLA, SOLIS, CURI, 2002).

A origem dos ácidos graxos secretados no leite ocorrem de duas maneiras: ácidos graxos oriundos da dieta (ou mobilização das reservas corporais) e ácidos graxos sintetizados endogenamente na glândula mamária pela ação das enzimas dessaturase (ácidos graxos de cadeia longa), ou pela síntese *de novo* que é realizada a partir do acetato e beta-hidroxibutirato pela ação de enzimas lipogênicas acetil-CoA-carboxilase e sintetase de ácidos graxos (ácidos graxos de cadeia curta e média – até 16 carbonos) (FONSECA, SANTOS, 2000). A origem dos ácidos graxos com mais de 18:0 carbonos provem da dieta, mobilização corporal e também de forma endógena. Muitos ácidos graxos de cadeia longa são formados na glândula mamária, onde a enzima Δ^9 -dessaturase utiliza o ácido vacênico (18:1 *trans*11), na formação do ácido linoleico conjugado e o ácido esteárico (18:0) para a formação do ácido oleico (18:1 *cis*9) conforme Bauman e Griinari (2001), como pode ser observado na figura 1.

Figura 1. Esquema representativo da síntese do CLA (C18:2 *cis*9 *trans*11) em ruminantes. O quadro a esquerda representa a via metabólica ocorrida no rúmen e o da direita a via metabólica que ocorre na glândula mamária ou tecido adiposo. Adaptado de Bauman e Griinari (2001).

A principal característica do leite de ruminantes é sua grande proporção em ácidos graxos de cadeia curta e média, que está relacionada com o aroma e o sabor específicos (SANTOS et al., 2001). No entanto, o perfil de ácidos graxos do leite de vacas vai depender da dieta fornecida aos animais. Quando é adicionado óleo a esta dieta, o perfil de ácidos graxos apresenta outras características, reduz ácidos graxos de

cadeia curta de média e aumenta os ácidos graxos de cadeia longa. Os óleos vegetais apresentam diferentes composições de perfil de ácidos graxos, sendo o óleo de canola composto em sua maioria, em torno de 90% de ácidos graxos insaturados.

A suplementação com lipídios insaturados ainda pode apresentar alguns efeitos desejáveis como limitar a produção de metano e redução da concentração de amônia ruminal (BATEMAN, JENKINS, 1998). O metano tem relação direta com a eficiência de fermentação ruminal em virtude da perda de carbono e hidrogênio e, conseqüentemente, perda de energia, determinando menor desempenho animal (BERCHIELLI; PIRES; OLIVEIRA, 2006). Portanto, minimizar a perda de metano é conveniente para o animal, como também ao meio ambiente.

Referências Bibliográficas

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos.** Resolução nº 18, de 30 de dezembro de 1999.

ANDRADE, A. D. **Ácidos graxos ômega-3 em peixes, óleos de peixes e óleos vegetais comestíveis.** Maringá, 1994. (Master's Thesis in Chemistry) - Universidade Estadual de Maringá.

ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, Brasília, v.3, n.2, p.145-154, 2004.

APPOLINÁRIO, P. P. et al. Metabolismo, oxidação e implicações biológicas do ácido docosahexaenoico em doenças neurodegenerativas. **Química Nova**, v.34, n.8, p.1-8, 2011.

ARABBI, R. P. Alimentos funcionais: aspectos gerais. **Sociedade Brasileira de Alimentos e Nutrição**, São Paulo, v.21, p. 87-102, 2001.

BAIER, A.C.; ROMAN, E. S. Informações sobre a cultura da “canola” no sul do Brasil. In: Seminário Estadual de Pesquisa de Canola, 1992, Cascavel. **Anais...** Cascavel: Embrapa/CNPT, p.1-9, 1992.

BATEMAN, H. G.; JENKINS, T. C. Influence of soybean oil in high fiber diets fed to nonlactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.81, n.9, p.2451-2458, 1998.

BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**. Roma. v.70, p.15-29, 2001.

BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes.** Jaboticabal: FUNEP, 2006. 583p.

BETT, V. et al. Desempenho e digestibilidade *in vivo* de cordeiros alimentados com dietas contendo canola em grão integral em diferentes formas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 28, p. 808-815, 1999.

BROUGHTON, K. S., et al. Reduced asthma symptoms with n-3 fatty acid ingestion are related to 5-series leukotriene production. **American Journal Clinical Nutrition**, v.65, p.1011-7, 1997.

DEPETERES, E. J. et al. Fatty Acid and Triglyceride Composition of Milk Fat from Lactating Holstein Cows in Response to Supplemental Canola Oil. **Journal of Dairy Science**. Champaign. v.84, p.929–936, 2001.

DE SILVA, P. S. et al. Dietary arachidonic and oleic acid intake in ulcerative colitis etiology: a prospective cohort study using 7-day food diaries. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**. v.26, p.11-8, 2014.

DILZER, A.; PARK, Y. Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v.52, p.488-513. 2012.

EMBRAPA TRIGO. **Definição e histórico de Canola**. Disponível em: <<http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/canola/definicao.htm>>. Acesso em: 14 de novembro de 2014.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Canola: uma variação genética mundialmente apreciada**. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/224.pdf>>. Acesso em: 14 de novembro de 2014.

GRAZIOLA, F.; SOLIS, V. S.; CURI, R. Estrutura química e classificação dos ácidos graxos. In: CURI, R.; POMPEIA, C.; MIYASAKA, C. K.; PROCOPIO, J. (Ed). **Entendo a gordura: os ácidos graxos**. Barueri: Manole, 2002. p.5-23.

ING, S. W.; BELURY, M. A. Impact of conjugated linoleic acid on bone physiology: proposed mechanism involving inhibition of adipogenesis. **Nutrition Reviews**. v.69, p.123-31, 2011.

HAUG, A.; HØSTMARK, A. T.; HARSTAD, O. M. Bovine milk in human nutrition – a review. **Lipids in Health and Disease**. v.6, p.25, 2007.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Editora UFSM, Santa Maria: UFSM, 2002, 139p.

LARDY, G. P. et al. Determination of the ruminal escape value and duodenal amino acid flow of rapeseed meal. **Journal of Animal Science**, Illinois, v.71, n.11, p.3096-3104, 1993.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. Traduzido por Lodi, W.R.; Simões, A.A. São Paulo: Ed. Savier, 1990.

LIM, J. H., et al. Oleic acid stimulates complete oxidation of fatty acids through protein kinase A-dependent activation of SIRT1-PGC1 α complex. **Journal of Biological Chemistry**. v.288, p.7117-26, 2013.

LOUGH, D. S. et al. Effects of dietary canola seed and soy lecithin in high-forrage diets on cholesterol content and fatty acid composition of carcass tissues of growing ram lambs. **Journal Animal Science**, Illinois, v.70, p.1153-1158, 1992.

LORGERIL, M. et al. Mediterranean alpha-linolenic acid rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. **Lancet**. London. v.343, p.1454-9, 1994.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, Legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Passo Fundo, vol.3, n.2, p.109-122, 2006.

NELSON, D.L.; COX, M.M. In: **Lehninger:Princípios da bioquímica**. 3ed. São Paulo: Sarvier, p.975, 2002.

NICOLAE, M. SMARANDA, P. DRAGOMIR, C. Effect of including canola oil in dairy cows diets on the milk yield and milk fatty acids profile. **Archiva Zootechnica**. v.11, p.64-72, 2008.

OMS - Organização Mundial da Saúde. **Doenças não transmissíveis**. Disponível em: <<http://www.who.int/gho/ncd/en/>>. Acesso em: 14 de novembro de 2014.

RODRIGUES, A. N. **Suplementação de vacas f1 holandês x zebu com suplementos nitrogenados e monensina sódica: produção e composição do leite 2011**. 78f. Dissertação (Mestre em Zootecnia – Produção Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

RULE, D. C.; BUSBOOM, J. R.; KERCHER, C. J. Effect of dietary canola on fatty acid composition of bovine adipose tissue, muscle, kidney, and liver. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 72, p. 2735-2744, 1994.

SANTOS, F. L. et al. Efeito da suplementação de lipídeos na ração sobre a produção de ácido linoléico conjugado (CLA) e a composição de gordura do leite de vacas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.6, p.1931-1938. 2001.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in wild plants, nuts and seeds. **Asia Pacific Journal Clinical Nutrition**. v. 11, p.163-73, 2002.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-6/Omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. **Food Research International**. v. 20, p. 77-90, 2004.

SMITH, W. A. Fats for lactating dairy cows. In: Congress of the south african society of animal production, 1990, Stellenbosch. **Anais...** Animal production. Stellenbosch: University of Stellenbosh, 1990.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, SP, v.37, n. 2, p. 127-135, 2003.

TANAKA, K. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. **Journal of Animal Science**, Illinois, v.76, p.291-303, 2005.

TERES, S., et al. Oleic acid content is responsible for the reduction in blood pressure induced by olive oil. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v.105, p. 13811–6, 2008.

TOMM, G. O. Situação em 2005 e perspectivas da cultura de canola no Brasil e em países vizinhos. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento online**. p.12, 2005.

VASSILIOU, E. K., et al. Oleic acid and peanut oil high in oleic acid reverse the inhibitory effect of insulin production of the inflammatory cytokine TNF- α both *in vitro* and *in vivo* systems. **Lipids in Health and Disease**. v.8, p.25, 2009.

3. CAPÍTULO I

Inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação e seus efeitos sobre o metabolismo

Resumo

Com o intuito de verificar o desempenho de vacas alimentadas com óleo de canola objetivou-se com o presente estudo avaliar o efeito da inclusão de níveis de óleo de canola na dieta de vacas em lactação sobre o consumo, digestibilidade aparente total, variáveis sanguíneas e ruminais. Foram utilizadas 18 vacas de raça Holandês, com produção média de 22 ($\pm$ 4) kg/dia, estágio intermediário de lactação. As vacas foram distribuídas em delineamento quadrado latino, com 6 quadrados contemporâneos, 3 períodos e 3 tratamentos: T1= dieta controle (sem adição de óleo); T2= inclusão de 3% de óleo de canola na dieta e T3= inclusão de 6% de óleo de canola na matéria seca da dieta. A inclusão do óleo de canola na dieta de vacas em lactação reduziu linearmente o consumo de MS em 2,25kg/d, FDN em 0,87kg/dia, PB em 0,45kg/dia, MO 2,07kg/dia e dos CNF em 2,09kg/dia no tratamento 6% em relação ao tratamento controle. Houve redução linear na digestibilidade conforme a inclusão de óleo de canola da FDN em 5% e dos CNF em 3,84%. A inclusão de óleo de canola não alterou as variáveis sanguíneas creatinina, albumina, proteína total, ureia, N-ureico, GGT, CK, AGNE, triglicerídeos, VLDL, glicose e SOD. O colesterol, HDL e LDL sanguíneos aumentaram linearmente conforme a inclusão do óleo em 34,88 mg/dL, 11,69 mg/dL e 23,98 mg/dL respectivamente, do tratamento 6% em relação ao controle. Não houve efeito da inclusão do óleo de canola sobre o pH ruminal e as concentrações de nitrogênio amoniacal, ácido propiônico e iso-butirato. As variáveis ácido acético, butírico e a relação acético/propiônico, reduziram linearmente com a inclusão do óleo de canola. A inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação reduz o consumo de MS, a digestibilidade da FDN, a concentração de ácido acético, porém não causa problemas à saúde das vacas, as variáveis sanguíneas estão dentro da normalidade para vacas em lactação.

Palavras-chave: nutrição, ruminantes, consumo, digestibilidade.

3.1 Introdução

Avaliar a qualidade da dieta fornecida aos animais é de fundamental importância, uma vez que, a resposta produtiva se dá em função do tipo de alimento, do consumo, digestibilidade e metabolismo dos nutrientes que compõem a dieta. Estes fatores influenciam diretamente a quantidade e qualidade do leite produzido (MARCHI, 2010). Dentre esses fatores, de acordo com Reid (1961) o consumo é o fator mais importante a ser considerado já que 60 a 90% da variação observada na ingestão de energia digestível entre os animais e as dietas está relacionada às diferenças no consumo, e 10 a 40% às diferenças na digestibilidade do alimento.

A suplementação com lipídios na dieta de vacas em lactação pode proporcionar diversos benefícios nutricionais como por exemplo, para vacas de alta produção, o aumento na produção de leite decorrente da maior ingestão de energia (KLUSMEYER, CLARK, 1991) e a incorporação de ácidos graxos poliinsaturados na gordura do leite, que está altamente correlacionada com a redução da incidência de doenças coronarianas em humanos. No entanto, o consumo de ácidos graxos livres insaturados pode causar efeitos deletérios ao metabolismo dos animais.

O uso de lipídios na dieta de vacas em lactação demanda cuidados, principalmente pela fonte, forma e quantidade fornecida, podendo causar um efeito negativo sobre a fermentação ruminal, pela cobertura física da fibra dietética, impedindo o ataque dos micro-organismos sobre a mesma e pela modificação da população microbiana do rúmen em função dos efeitos tóxicos dos ácidos graxos insaturados sobre os micro-organismos ruminais (JENKIS; JANE, 1989; PALMQUIST, JENKIS, 1980; CAVALIERI et al., 2005). Quando em excesso na dieta, os lipídios podem causar redução na digestibilidade da fibra, na concentração de amônia ruminal e da proporção acetato/propionato e de outros ácidos graxos de cadeia curta, especialmente acetato (OLIVEIRA et al., 2007; JENKINS, MCGUIRE, 2006; PALMQUIST, JENKINS, 1980).

A análise dos componentes sanguíneos tem sido a forma mais frequente de conhecer e interpretar o estado de saúde de vacas em lactação, basicamente no que se refere a seu estado metabólico (WITTEWER, 2000). O uso de lipídios na dieta de vacas em lactação pode acarretar em variações na concentração sanguínea de alguns metabólitos como glicose, colesterol, triglicerídeos, ácidos graxos não esterificados,

ureia e enzimas como gamaglutamiltranspeptidase. O conhecimento das variações dos metabólitos sanguíneos é fundamental para verificar se os animais estão ou não em seu estado fisiológico (LÓPEZ; LÓPEZ; STUMPF JUNIOR, 2004).

Os componentes bioquímicos que representam as principais vias metabólicas do organismo podem ser classificadas como metabolismo energético: glicose, colesterol e beta-hidroxibutirato; o metabolismo proteico: ureia, hemoglobulina, globulinas, albumina e proteínas totais; e o metabolismo dos macrominerais: cálcio, fósforo inorgânico, magnésio, sódio e potássio. Também há metabólitos indicadores do funcionamento hepático como as enzimas AST (aspartato aminotransferase), GGT (gama-glutamiltransferase) e GDH (glutamato desidrogenase) (DIRKSEN, BREITNER, 1993).

Para verificar a saúde do animal, avaliar o metabolismo sanguíneo é de vital importância, pois o mesmo pode variar conforme a dieta fornecida, fase de lactação, quantidade de leite produzido ou quando há presença de alguma patologia. Os desafios nutricionais, fisiológicos e desequilíbrios metabólicos podem ser monitorados por variáveis bioquímicas, sendo uma ferramenta de grande utilidade para diagnosticar possíveis problemas de saúde no animal, evitando prejuízos no desempenho produtivo e reprodutivo do rebanho. O uso de lipídios na dieta de vacas em lactação pode alterar as variáveis sanguíneas, dependendo da fonte e quantidade de gordura adicionada à dieta (MATURANA FILHO, 2013).

Assim, objetivou-se com o presente estudo avaliar o efeito da inclusão de níveis de óleo de canola na dieta de vacas em lactação sobre consumo, digestibilidade aparente total, variáveis sanguíneas e ruminais.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Animais, manejo e instalações

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos/Universidade de São Paulo, em Pirassununga, São Paulo, entre os meses de abril à junho de 2014. Foram utilizadas 18 vacas de raça Holandês, com produção média de 22 ($\pm$ 4) kg/dia, estágio intermediário de lactação

(em torno de 190 ± 40 dias) e peso vivo médio de 564 (± 70) kg. Nenhuma vaca estava prenhe. As vacas foram selecionadas por produção de leite, fase de lactação e número de partos.

Os animais foram alojados em baias individuais para avaliação do consumo voluntário. A oferta e as sobras dos alimentos foram pesadas diariamente, permitindo controle de 10% de sobra no cocho. A dieta foi fornecida uma vez ao dia às 06:30 horas, onde a mistura do volumoso e concentrado foi efetuada de forma manual, sendo a proporção volumoso:concentrado 50:50 respectivamente. Após a ordenha da tarde, era realizada uma nova mistura no cocho de cada animal para estimular o consumo. A ordenha foi realizada duas vezes ao dia, às 7:00 e às 15:00 horas, em sala de ordenha tipo espinha de peixe e sistema canalizado, seguindo as medidas gerais de higiene, realização de *pré* e *pós-dipping* com anti-séptico.

3.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e dieta

O experimento foi conduzido durante três períodos de 21 dias, sendo 14 dias de adaptação às dietas e sete de coletas. As vacas foram distribuídas em delineamento quadrados latino, com 6 quadrados contemporâneos, 3 períodos e 3 tratamentos: T1= dieta controle (sem adição de óleo); T2= inclusão de 3% de óleo de canola na dieta e T3= inclusão de 6% de óleo de canola na matéria seca da dieta (Tabela 1). As dietas foram formuladas conforme as recomendações do NRC (2001).

Tabela 1 - Ingredientes e composição química das dietas experimentais.

Variáveis	Inclusão de óleo de canola		
	Controle	3%	6%
Ingredientes % MS			
Milho moído	29,73	26,14	22,53
Farelo de soja	17,47	18,06	18,67
Sal comum	0,50	0,49	0,49
Sal mineral	1,38	1,38	1,38
Fosfato bicálcico	0,11	0,14	0,14
Ureia	0,50	0,49	0,49
Calcário	0,23	0,24	0,24
Óleo de canola	-	3,0	6,0
Silagem de milho	50,02	50,0	50,0
Composição Bromatológica % MS			
MS	63,85	63,85	64,13
MM	3,90	3,88	3,86
MO	96,09	96,11	96,13
FDN	29,90	29,63	29,37
FDA	18,42	18,35	18,28
FDAi	6,90	6,87	6,83
Lignina	3,59	3,58	3,56
EE	3,19	6,01	8,82
PB	17,05	17,02	16,99
CT	75,84	73,08	70,31
CNF	45,93	43,44	40,94
NDT	66,93	69,14	72,78
EL _L , Mcal/kg	1,52	1,57	1,66

CT= carboidratos totais (Sniffen et al. (1992)); CNF= carboidratos não-fibrosos (Hall (2000)); NDT= nutrientes digestíveis totais (Sniffen et al. (1992)); EL_L= energia líquida de lactação (NRC (2001)).

3.2.3 Análise bromatológica e digestibilidade aparente total

Foram coletadas amostras diárias durante o período de coletas dos alimentos fornecidos e das sobras, diretamente do cocho e congeladas -20°C, sendo compostas após o término de cada período experimental em uma única amostra por animal para análise bromatológica. As amostras foram secas em estufa de ventilação forçada a 65°C por 72 horas, para determinação da matéria parcialmente seca e posteriormente moídas em moinho do tipo Willey em peneira de 1 mm. Os teores de matéria seca total (105°C) (AOAC 950.15) matéria mineral (AOAC, 942.05) e extrato etéreo (AOAC 920.39) foram determinados de acordo com as metodologias descritas por AOAC (1995).

O teor de proteína bruta (AOAC, 984.13) foi obtido pela multiplicação do teor de nitrogênio total por 6,25 pelo método de combustão de Dumas, conforme a AOAC

(1995). Os teores de fibra detergente neutro e fibra detergente ácido foram obtidos conforme método descrito por Van Soest et al. (1991). A determinação de FDN foi de acordo com as adaptações descritas por Mertens et al. (2002), usando α -amilase e sem adição de sulfito de sódio. Os carboidratos totais foram calculados conforme metodologia de Sniffen et al. (1992), os teores de carboidratos não-fibrosos foram calculados como proposto por Hall (2000), e os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados segundo Sniffen et al. (1992).

Com base na composição bromatológica dos alimentos e das sobras, foi calculado o consumo de matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro, extrato etéreo, carboidratos não fibrosos e NDT segundo Sniffen et al. (1992). Para determinação da digestibilidade aparente dos nutrientes, a excreção total de fezes foi estimada pela concentração de fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), obtida após incubação ruminal dos alimentos, sobras e fezes em saquinhos de TNT por um período de 288 horas, segundo técnica descrita por Casali et al. (2008).

As fezes foram coletadas diretamente do reto dos animais durante 6 dias consecutivos em cada período experimental, com intervalos de 26 horas entre coletas, iniciando-se às 8h do dia 1º e terminando às 18h do dia 6º. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer à -20°C. Ao final do período de coleta foi realizada uma amostragem composta por animal conforme Ítavo et al. (2002).

3.2.4 Pesagem dos animais e escore de condição corporal

Os animais foram pesados no primeiro dia do experimento e no fim de cada período experimental, sempre após a ordenha da tarde. O escore de condição corporal foi avaliado nos mesmos dias do peso corporal segundo a metodologia proposta por Wildman et al. (1982) e desenvolvida por Edmonson et al. (1989).

3.2.5 Variáveis sanguíneas e ruminais

As coletas de sangue foram realizadas no 19º dia de cada período, por meio de punção na veia coccígea, antes do fornecimento da dieta. As amostras foram coletadas em dois tubos sem anticoagulante e um tubo com heparina. Após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 2.000g por 15 minutos a uma temperatura de 4°C para obtenção do plasma. O plasma foi acondicionado em tubos de 2 mL do tipo “ependorff” e congelado a -20°C. O soro

Os ácidos graxos não-esterificados, triglicerídeos, uréia, nitrogênio ureico, betahidroxibutirato, glicose, albumina, proteína total, colesterol total, HDL, LDL, creatina quinase (CKNAC), gama glutamil transferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST) foram determinados por meio de kits comerciais (Randox®) que utilizam métodos colorimétricos enzimáticos ou cinéticos enzimáticos. A leitura foi realizada em analisador automático de bioquímica sanguínea (Sistema de Bioquímica Automático SBA -200 – CEL®) e em leitora de microplacas (Marca Asys, Modelo Expert Plus – UV).

As amostras destinadas à quantificação da enzima superóxido dismutase (SOD), foram preparadas após a coleta de sangue. Preparou-se uma solução de eritrócitos com solução tampão. Após a centrifugação do plasma heparinizado a 2000g durante 15 minutos a 4°C, as hemácias foram separadas em duas alíquotas e o restante da amostra foi descartado juntamente com leucócitos. Foi adicionado aos tubos de sangue a solução tampão e, novamente os tubos foram centrifugados, sendo esse procedimento repetido por mais 2 vezes até que a amostra não apresentasse mais placas de leucócitos. Estas amostras foram alíquotadas em tubos eppendorf âmbar e armazenadas em congelador a - 80°C.

As amostras de líquido ruminal foram coletadas no último dia de cada período através de sonda esofágica. A coleta foi realizada antes e 2 horas após o fornecimento da dieta. O primeiro líquido coletado foi desprezado para reduzir a contaminação pela saliva, o segundo líquido coletado de cada animal foi acondicionado em um tubo falcon de 45 mL, homogeneizado e seu valor de pH imediatamente mensurado por meio da leitura em peagâmetro digital. Após a leitura a amostra foi centrifugada a 2500-3000 rpm por 15 minutos. Posteriormente, 2 mL de amostra sobrenadante foram adicionadas a 1 mL de solução de H₂SO₄ 1N e congeladas à -20°C para realização das análises de

nitrogênio amoniacal determinadas pelo método espectrofotométrico segundo Bergmeyer (1985).

A amostragem para ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) foi realizada através da coleta de 10 mL de amostra sobrenadante que foram acondicionadas em tubo falcon e congeladas à -20°C. As concentrações de AGCC foram medidas por cromatografia em fase gasosa (GC-2014, Shimadzu, Japão), através de uma coluna capilar (Stabilwax®, Restek, EUA) a 145°C (isotérmica) e um injetor split/splitless e detector dual FID a 250°C, utilizando o método descrito por Erwin et al. (1961), adaptado por Getachew et al. (2002). Hélio foi utilizado como gás de arraste, o ar sintético como comburente e o hidrogênio como combustível. As amostras foram descongeladas a temperatura ambiente e centrifugadas a 14500 × g durante 10 minutos. O sobrenadante (800 µL) foi transferido para um frasco seco e limpo com 200 µL de ácido fórmico 98-100% PA ACS e 100 µL do padrão interno (ácido 2-etil-butírico 100 mM, Chemservice, USA). O padrão externo foi preparado com ácidos acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico (Chemservice, USA). O software GCSolution® (Shimadzu, Japão) foi utilizado para os cálculos.

3.2.6 Análise estatística

Os resultados foram analisados pelo programa computacional Statistical Analysis System® (SAS, 2001), após verificação da normalidade dos tratamentos e a homogeneidade das variâncias pelo Proc-UNIVARIATE. Com a distribuição normal dos dados, o procedimento estatístico adotado foi de acordo com os efeitos principais dos tratamentos, pelo comando Proc-MIXED do SAS (versão 9.0), adotando-se nível de significância de 5%, de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + Q_j + A(Q)_k + Pl + e_{ijkl}$$

em que Y_{ijkl} = é o valor observado; μ = média geral; T_i = efeito fixo de tratamento i , $i=1$ a 3; Q_j = efeito fixo do quadrado latino j , $j = 1$ a 3; $A(Q)_k$ = efeito aleatório do animal k dentro de cada quadrado latino, $k = 1$ a 18; Pl = efeito fixo do período l , $l = 1$ a 3; E_{ijkl} = erro aleatório associado a cada observação. Os graus de liberdade foram calculados de acordo com o método Satterthwaite (DDFM = Satterth).

As variáveis ruminais foram analisadas como medidas repetidas no tempo (tempo 0 e 2 horas após o fornecimento da alimentação matinal). Diversas estruturas de erros foram investigadas, e a estrutura escolhida para cada variável avaliada foi de acordo com o critério de informação bayesiano (BIC), de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + T_i + TE_j + T_i \times TE_j + Q_k + Q_k \times TE_j + A(Q)_l + A(Q)_l \times TE_j + P_m + P_m \times TE_j + e_{ijklm}$$

em que Y_{ijklm} = é o valor observado; μ = média geral; T_i = efeito fixo de tratamento i , $i = 1$ a 3; TE_j = efeito fixo do tempo j , $j = 1$ a 2; $T_i \times TE_j$ = efeito fixo da interação entre T_i e TE_j ; Q_k = efeito fixo do quadrado latino j , $j = 1$ a 6; $Q_k \times TE_j$ = efeito fixo da interação entre Q_k e TE_j ; $A(Q)_l$ = efeito aleatório do animal k dentro de cada quadrado latino, $k = 1$ a 18; $A(Q)_l \times TE_j$ = efeito aleatório da interação entre $A(Q)_l$ e TE_j ; P_m = efeito fixo do período m ; $P_m \times TE_j$ = efeito fixo da interação entre P_m e TE_j ; e_{ijklm} = erro aleatório associado a cada observação. O efeito de tratamento foi decomposto em dois contrastes polinomiais ortogonais (linear e quadrático). O intercepto e o erro padrão do intercepto, e os coeficientes angulares e os erros padrões dos coeficientes angulares foram obtidos utilizando a opção “estimate” do procedimento MIXED. As equações de regressão foram escolhidas de acordo com o critério de informação bayesiano (BIC), erro padrão das estimativas e comportamento biológico dos dados.

3.3 Resultados e Discussão

A inclusão do óleo de canola na dieta de vacas em lactação reduziu linearmente o consumo de MS em 2,25kg/d, FDN em 0,87kg/dia, PB em 0,45kg/dia, MO 2,07kg/dia e dos CNF em 2,09kg/dia no tratamento 6% em relação ao tratamento controle (Tabela 2). O consumo de NDT reduziu de forma quadrática, sendo seu menor valor no tratamento 3%. Em função da redução do consumo de matéria seca, houve consequentemente, uma redução no consumo dos nutrientes, exceto o consumo de EE, que aumentou linearmente em 1,106 kg/dia no tratamento 6% em relação ao tratamento controle. Esse aumento no consumo de EE deve-se a diferença de EE presente na dieta, 5,63% na MS da dieta a mais no tratamento 6% em relação ao controle.

A liberação de ácidos graxos insaturados diretamente no rúmen, utilizando óleo, causa redução no consumo devido a perda da palatabilidade da dieta e pela modificação na fermentação ruminal (FRANKLIN et al., 1999). No presente estudo o óleo de canola apresentou 91,7% de ácidos graxos insaturados. A redução do consumo de matéria seca e dos nutrientes deve-se ao fato do óleo de canola, provavelmente, acarretar efeitos diretos sobre a microbiota ruminal pelo recobrimento das partículas dos alimentos com uma película de gordura, impedindo assim, a aderência das bactérias celulolíticas e o acesso das enzimas ao seu substrato prejudicando então, a degradação da fibra. Os ácidos graxos insaturados são tóxicos a alguns tipos de micro-organismos, os mais suscetíveis são as bactérias Gram (+), arqueias e protozoários (PALMQUIST, MATTOS, 2006).

Conforme Kozloski (2002) o efeito tóxico dos ácidos graxos insaturados sobre os micro-organismos é devido às alterações nas propriedades físico-químicas e na composição lipídica nas membranas dos micro-organismos, alterando a permeabilidade da membrana microbiana, inibindo a atividade destes micro-organismos no rúmen.

Tabela 2 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre o consumo de matéria seca e dos nutrientes.

Consumo kg/dia	Inclusão de óleo de canola			Média	EPM*	P**	
	Controle	3%	6%			L	Q
CMS ¹	23,85	21,80	21,60	22,36	0,48	0,0003	0,060
CMS%PV ²	3,96	3,56	3,58	3,72	0,08	0,0002	0,008
CFDN ³	7,23	6,52	6,36	6,72	0,18	<0,0001	0,090
CFDN%PV ⁴	1,20	1,07	1,05	1,11	0,03	<0,0001	0,015
CPB ⁵	3,98	3,60	3,53	3,70	0,08	0,0002	0,096
CEE ⁶	0,772	1,301	1,878	1,313	0,069	<0,0001	0,523
CMO ⁷	22,89	20,89	20,82	21,49	0,47	0,0007	0,052
CCNF ⁸	10,91	9,45	8,82	9,72	0,23	<0,0001	0,039
CNDT ⁹	15,92	14,99	15,72	15,51	0,33	0,620	0,025

*EPM= erro padrão da média; P** L= Probabilidade para efeito linear, Q= Probabilidade para efeito quadrático.

Equações: ¹Y= 23,48 (EP = 1,31) – 0,3740 (EP = 0,094) × IOC (%); ²Y= 3,98 (EP = 0,176) – 0,207 (EP = 0,053) × IOC (%) + 0,0242 (EP = 0,0085) × IOC (%)²; ³Y= 7,11 (EP = 0,57) – 0,1431 (EP = 0,031) × IOC (%); ⁴Y= 1,19 (EP = 0,08) – 0,0247 (EP = 0,0048) × IOC (%); ⁵Y= 3,93 (EP = 0,168) – 0,0748 (EP = 0,018) × IOC (%); ⁶Y= 0,759 (EP = 0,051) + 0,1845 (EP = 0,0070) × IOC (%); ⁷Y= 22,52 (EP = 1,28) – 0,3434 (EP = 0,096) × IOC (%); ⁸Y= 10,76 (EP = 0,53) – 0,3485 (EP = 0,04) × IOC (%); ⁹Y= 15,88 (EP = 0,94) – 0,586 (EP = 0,245) × IOC (%) + 0,092 (EP = 0,039) × IOC (%)².

A inclusão de óleo de canola não apresentou diferença na digestibilidade da MS, MO, PB entre os tratamentos. No entanto, houve uma redução linear na digestibilidade

aparente total da FDN em 5% e dos CNF em 3,84%. A redução na digestibilidade da FDN é devido ao grau de insaturação do óleo de canola e a sua ação diretamente sobre os micro-organismos ruminais, refletindo na redução da ação das bactérias gram (+) sobre a fibra dietética (Tabela 3).

A digestibilidade do EE apresentou um aumento linear conforme a inclusão do óleo de canola na dieta de vacas em lactação em 8,88% (Tabela 3), devido ao fato das vacas terem consumido mais EE no tratamento 6% do que no controle. Estes resultados corroboram com os encontrados por Souza (2011) que relatou em seu estudo com níveis de óleo de girassol (0; 1,5; 3 e 4,5% na MS da dieta) aumento no consumo e digestibilidade do EE, conforme a inclusão do óleo, porém o consumo e a digestibilidade da MS não apresentaram diferença entre os tratamentos. O grau de insaturação do óleo tem uma correlação positiva com a digestibilidade do EE, quanto maior o grau de insaturação, mais digestível é o EE.

Tabela 3 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre a digestibilidade aparente total (%) da matéria seca e dos nutrientes.

Digestibilidade	Inclusão de óleo de canola			Média	EPM	P**	
	Controle	3%	6%			L	Q
CDMS	62,51	61,74	60,72	61,96	0,60	0,163	0,907
CDMO	65,61	64,58	63,71	64,90	0,61	0,141	0,941
CDFDN ¹	45,06	40,46	40,06	42,19	1,07	0,043	0,305
CDPB	67,36	69,09	69,51	69,05	0,65	0,118	0,567
CDEE ²	75,51	80,78	84,39	81,06	1,43	0,0005	0,668
CDCNF ³	77,82	77,28	73,98	76,47	0,78	0,026	0,319

*EPM= erro padrão da média; P** L= Probabilidade para efeito linear, Q= Probabilidade para efeito quadrático.

Equações: ¹Y= 44,68 (EP = 1,70) – 0,8023 (EP = 0,374) × IOC (%); ²Y= 75,91 (EP = 5,03) + 1,4373 (EP = 0,366) × IOC (%); ³Y= 78,48 (EP = 2,18) – 0,689 (EP = 0,261) × IOC (%).

Apesar da redução do consumo no tratamento 3 e 6% de óleo, o escore de condição corporal (ECC) e o peso corporal não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, como pode ser observado na tabela 4. As vacas utilizadas para o desenvolvimento deste projeto encontravam-se em fase final de lactação, onde o ECC e o peso já estão estabilizados, sendo essa diferença no consumo incapaz de alterar essas variáveis, já que a redução no consumo foi de 2,05 kg/dia de MS para o tratamento 3% e de 2,25 kg/dia de MS para o tratamento 6% em relação ao controle. A eficiência produtiva não apresentou diferença entre os tratamentos, sendo considerado um efeito positivo, pelo elevado percentual de EE na MS da dieta do tratamento 6% quando comparado ao controle.

Tabela 4 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre a eficiência produtiva (EP), escore de condição corporal e peso corporal.

Variáveis	Inclusão de óleo de canola			Média	EPM*	P**	
	Controle	3%	6%			L	Q
EP (PL/CMS)	1,01	1,04	1,00	1,02	0,03	0,730	0,250
ECC	3,65	3,62	3,59	3,60	0,07	0,440	0,998
PESO (kg)	613,09	613,64	611,66	608,35	11,60	0,705	0,699

*EPM= erro padrão da média; P** L= Probabilidade para efeito linear, Q= Probabilidade para efeito quadrático. EP= eficiência produtiva.

A inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação não alterou as variáveis sanguíneas (Tabela 5) creatinina, proteína total, ureia, N-ureico, GGT, CK, AGNE, triglicerídeos, VLDL, glicose e SOD. No entanto, a variável AST apresentou uma variação quadrática entre os tratamentos, sendo seu maior valor 75,22 U/L representado no tratamento 3%. O AST é uma enzima hepática, mesmo tendo aumentando com a inclusão do óleo de canola, os valores ainda estão dentro da normalidade, <120 U/L, valores superiores ao de referência indicam lesão hepatocelular secundária devido ao excesso de mobilização lipídica no metabolismo da vaca (GRANDE, SANTOS, 2014).

A albumina aumentou linearmente conforme a inclusão de óleo, no entanto os valores de referência ainda encontram-se dentro da normalidade (3-4,2 g/dL) conforme Gonzáles, Borges e Cecim (2000).

O BHB apresentou uma redução linear de 0,12 mmol/L do tratamento controle para o tratamento 6% de óleo de canola. O BHB aumenta na corrente sanguínea quando há deficiência de energia. No caso deste estudo, houve excesso de energia, principalmente no tratamento 6%, com elevado teor de EE, repercutindo na redução do BHB pela inibição da mobilização de corpos cetônicos nas vacas, compensado pelo elevado consumo de lipídios da dieta.

O colesterol, HDL e LDL aumentaram linearmente conforme a inclusão do óleo em 34,88 mg/dL, 11,69 mg/dL e 23,98 mg/dL respectivamente, do tratamento 6% em relação ao controle. Apesar do colesterol total ter aumentado, devido a grande quantidade de lipídios consumido pelas vacas, os valores de HDL também aumentaram, porém mantendo praticamente a mesma proporção em todos os tratamentos: tratamento controle com 30,47%, 3% de óleo 31,41% e no tratamento 6% de inclusão de óleo de canola 31,08% do colesterol total. Esse resultado é muito importante para a saúde das

vacas, tendo em vista o aumento do colesterol total em função do elevado teor de extrato etéreo das dietas dos tratamentos com óleo de canola.

O HDL (lipoproteína de alta densidade) também chamado de “colesterol bom” atua de forma benéfica, mobilizando o colesterol excedente presente no sangue para o fígado, onde será metabolizado, evitando danos causados pela deposição desse colesterol na forma de gordura nos tecidos periféricos, que resulta em acúmulo de gordura corporal, o que apresenta efeitos negativos sobre a taxa de concepção e até mesmo problemas distócicos no parto, caso a vaca esteja em final de gestação.

Gonzáles, Borges e Cecim (2000) mencionam alguns valores ótimos de referência para vacas em lactação, como o BHB <1 mmol/L, AGNE 0,4 mmol/L (mede e mobilização de gordura), ureia 15-40 mg/dL (indicador de proteínas e seu balanço com glicídios fermentáveis), N-ureico 8-18 mg/dL, albumina de 3-4,2 g/dL (sua redução reflete em insuficiência hepática ou pobre fornecimento de aminoácidos a dieta), a diferença entre proteínas totais e albuminas são as globulinas, cujo valor varia entre 3,5-5 g/dL (aumento das globulinas é causada com inflamação crônica causada por exemplo por mastite, metrite ou laminite). Em revisão realizada por Grande e Santos (2014) os mesmos também relatam valores de referência para variáveis sanguíneas como proteína total 6,6-9,0 g/dL, glicose 45,04-73,87 mg/dL, e colesterol total 115,83-193,05 mg/dL. Dentre as variáveis mencionadas, a inclusão de óleo de canola não resultou em distúrbios metabólicos pelo elevado teor de extrato etéreo da dieta, sendo as variáveis mencionadas dentro da normalidade para vacas em lactação saudáveis, apenas as variáveis ureia e N-ureico encontram-se um pouco acima do que a literatura sugere.

Tabela 5 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre variáveis sanguíneas.

Variáveis	Inclusão de óleo de canola			Média	EPM*	P**	
	Controle	3%	6%			L	Q
Proteína Total g/dL	7,82	7,81	7,75	7,19	0,07	0,605	0,834
Albumina ¹ g/dL	3,05	3,13	3,14	3,12	0,03	0,019	0,319
Ureia mg/dL	41,22	41,49	43,72	41,99	1,06	0,150	0,495
N-Ureico mg/dL	19,26	19,38	20,43	19,62	0,49	0,149	0,493
Creatinina mg/dL	1,02	1,04	1,08	1,05	0,02	0,071	0,747
GGT U/L	24,75	26,44	25,78	25,69	1,03	0,648	0,529
AST ² U/L	66,88	75,22	68,27	70,45	2,58	0,742	0,041
CK U/L	74,23	83,04	85,97	79,47	3,57	0,155	0,686
BHB ³ mmol/L	0,42	0,37	0,30	0,36	0,02	0,012	0,776
AGNE mmol/L	0,14	0,17	0,16	0,16	0,01	0,068	0,084
Triglicerídeos mg/dL	17,80	19,96	18,95	18,94	0,80	0,404	0,181
Colesterol ⁴ mg/dL	138,25	167,26	173,13	160,00	5,10	<0,0001	0,048
HDL ⁵ mg/dL	42,13	52,55	53,82	49,73	1,20	<0,0001	0,008
LDL ⁶ mg/dL	92,07	110,71	116,05	106,33	4,08	<0,0001	0,135
VLDL mg/dL	3,56	3,99	3,79	3,78	0,16	0,404	0,181
Glicose mg/dL	65,73	66,93	66,31	66,29	0,87	0,647	0,403
SOD u/mL	774,57	765,70	799,33	791,16	27,88	0,419	0,413

*EPM= erro padrão da média; P** L= Probabilidade para efeito linear, Q= Probabilidade para efeito quadrático. GGT= gama-glutamilttransferase; AST= aspartato aminotransferase; CK= creatinina quinase; BHB= betahidroxibutirato; AGNE= ácidos graxos não esterificados; N-Ureico= nitrogênio ureico; SOD= superóxido desmutase.

Equações: ¹Y= 3,07 (EP = 0,07) + 0,01579 (EP = 0,006406) × IOC (%); ²Y= 66,95 (EP = 4,52) + 5,293 (EP = 2,5190) × IOC (%) – 0,8453 (EP = 0,4005) × IOC (%)²; ³Y= 0,42 (EP= 0,03) – 0,01884 (EP = 0,007263) × IOC (%); ⁴Y= 142,28 (EP = 13,09) + 5,8823 (EP = 1,1913) × IOC (%); ⁵Y= 43,87 (EP = 2,1600) + 1,9042 (EP = 0,3499) × IOC (%); ⁶Y= 94,32 (EP = 11,59) + 4,0527 (EP = 0,8914) × IOC (%).

Não houve efeito (Tabela 6) da inclusão do óleo de canola na dieta de vacas em lactação sobre o pH ruminal e as concentrações de nitrogênio amoniacal, ácido propiônico e iso-butirato nos tempos 0 e 2 horas após o fornecimento da dieta. No entanto, os ácidos graxos valérico e iso-valérico não diferiram apenas no tempo 0 quanto ao nível de inclusão de óleo. As variáveis ácido acético, butírico e a relação acético/propiônico, reduziram linearmente conforme a inclusão do óleo de canola. Lipídios insaturados causam um efeito tóxico aos micro-organismos ruminais, como também se aderem a fibra, dificultando a ação dos micro-organismos sobre a mesma que a utilizam como substrato, reduzindo a concentração de ácido acético no rúmen, como também a relação acetato/propionato e o ácido butírico que está altamente correlacionado com o ácido acético.

Todas as variáveis analisadas diferiram em relação ao tempo de coleta das amostras (T0 e T2). Houve interação do tratamento e tempo de coleta apenas no ácido

iso-valérico, as demais variáveis não foram significativas para a interação. Em função da coleta de líquido ruminal ter sido realizada através do uso da sonda esofágica, e por ser 18 animais, em 2 tempos de coleta, impossibilitou o total controle do tempo entre as coletas, pela individualização da coleta, tendo animais mais fáceis e/ou mais difíceis. Desse modo, a concentração de ácidos graxos de cadeia curta não chegou ao pico de produção, em torno de 3 horas após o fornecimento da dieta, repercutindo em valores menores do que os encontrados na literatura. Neste estudo a utilização do teor de lipídios ideal para que não ocorra a nenhum efeito negativo, conforme a literatura em torno de 7%, sobre o desempenho das vacas foi extrapolado, modificando a concentração de ácidos graxos presentes no rúmen.

Tabela 6 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre a fermentação ruminal.

sobre a fermentação ruminal.									
Variáveis		Inclusão de óleo de canola			EPM*	P**			
		Controle	3%	6%		Tempo	TxT	L	Q
pH	T0	7,21	7,17	7,27	0,03	<0,0001	0,362	0,324	0,186
	T2	6,76	6,82	6,80	0,04			0,611	0,486
mM									
Acético	T0 ¹	20,94	19,27	16,15	1,08	0,0009	0,549	0,023	0,627
	T2 ²	27,41	22,71	21,54	1,22			0,021	0,501
Propiônico	T0	8,48	8,83	8,11	0,30	<0,0001	0,128	0,602	0,305
	T2	12,94	11,12	12,44	0,58			0,622	0,089
Butírico	T0 ³	3,77	3,21	2,64	0,23	<0,0001	0,249	0,007	0,986
	T2 ⁴	6,09	4,26	4,34	0,30			0,010	0,098
Valérico	T0	0,45	0,50	0,45	0,02	<0,0001	0,083	0,982	0,104
	T2	0,93	0,79	0,77	0,04			0,071	0,533
Iso-But	T0	0,70	0,74	0,68	0,03	0,031	0,254	0,722	0,375
	T2	0,68	0,57	0,61	0,04			0,361	0,361
Iso-Val	T0	1,22	1,28	1,17	0,06	0,005	0,025	0,693	0,461
	T2 ⁵	1,69	1,32	1,26	0,08			0,006	0,322
Ace/Prop	T0 ⁶	2,37	2,17	1,90	0,07	0,001	0,664	0,005	0,922
	T2 ⁷	2,25	2,08	1,84	0,08			0,002	0,627
mg/dL									
N-NH ₃	T0	9,22	10,43	10,63	0,40	<0,0001	0,335	0,152	0,543
	T2	18,71	18,64	17,38	0,97			0,388	0,710

*EPM= erro padrão da média; P** L= Probabilidade para efeito linear, Q= Probabilidade para efeito quadrático, TratamentoXTempo= Efeito da interação entre a inclusão de óleo de canola na dieta e o tempo de coleta.

Equações: ¹Y= 21,03 (EP = 3,34) – 0,7671 (EP = 0,318) × IOC (%); ²Y= 26,84 (EP = 3,30) – 1,0202 (EP = 0,361) × IOC (%); ³Y= 3,80 (EP = 0,70) – 0,1938 (EP = 0,066) × IOC (%); ⁴Y= 5,77 (EP = 0,609) – 0,2946 (EP = 0,111) × IOC (%); ⁵Y= 1,67 (EP = 0,25) – 0,08361 (EP = 0,0267) × IOC (%); ⁶Y= 2,42 (EP = 0,21) – 0,09004 (EP = 0,015) × IOC (%); ⁷Y= 2,31 (EP = 0,26) – 0,08053 (EP = 0,0138) × IOC (%).

Conforme a inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação, a proporção de ácido acético e butírico reduziram linearmente tanto no tempo 0 quanto 2 horas após o fornecimento da dieta, e o ácido valérico apenas no tempo 2 do total de ácidos graxos de cadeia curta. Já o ácido propiônico aumentou linearmente com a inclusão do óleo de canola (tabela 7), que é inversamente proporcional a proporção de ácido acético e butírico do total de ácidos graxos presentes no rúmen. Valadares Filho e Pina (2006) mencionam proporções individuais dos ácidos graxos de cadeia curta presentes no rúmen, sendo a variação do ácido acético em torno de 54-74%, ácidos propiônico de 16-27%, ácido butírico de 6-15%, iso-butírico 1-4,5%, valérico de 1-1,7%, iso-valérico 0,5-4%. A proporção individual dos ácidos graxos de cadeia curta estão próximos aos valores mencionados pelos autores, podendo ser considerados dentro da normalidade para vacas saudáveis.

Tabela 7 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre a proporção (%) de ácidos graxos de cadeia curta do total de ácidos graxos.

Variáveis		Inclusão de óleo de canola			EPM*	P**			
		Controle	3%	6%		Tempo	*TxT	L	Q
Acético	T0 ¹	57,210	56,201	53,781	0,547	0,0084	0,7987	<0,0001	0,7399
	T2 ²	58,220	55,134	53,058	0,629			<0,0001	0,7652
Propiônico	T0 ³	24,831	26,901	29,716	0,684	0,0179	0,8595	<0,0001	0,7193
	T2 ⁴	25,371	27,775	30,495	0,754			<0,0001	0,7811
Butírico	T0 ⁵	10,305	9,299	8,474	0,275	0,0026	0,4185	0,0003	0,7367
	T2 ⁶	11,196	10,497	9,823	0,226			0,0018	0,7311
Valérico	T0	0,449	0,504	0,448	0,023	<0,0001	0,0655	0,9825	0,1041
	T2	0,935	0,788	0,760	0,043			0,0708	0,5329
Iso-But	T0	0,705	0,738	0,676	0,028	0,0321	0,2572	0,6571	0,3751
	T2	0,688	0,570	0,610	0,038			0,3613	0,3609
Iso-Val	T0	1,243	1,323	1,147	0,061	0,0027	0,0386	0,4355	0,4897
	T2 ⁷	1,706	1,262	1,261	0,083			0,0060	0,3221

*EPM= erro padrão da média; P** L= Probabilidade para efeito linear, Q= Probabilidade para efeito quadrático, TratamentoXTempo= Efeito da interação entre a inclusão de óleo de canola na dieta e o tempo de coleta.

Equações: ¹Y= 58,1491 (EP = 1,5277) – 0,7222 (EP = 0,1005) × IOC (%); ²Y= 57,0678 (EP = 2,0763) – 0,6686 (EP = 0,07773) × IOC (%); ³Y= 24,8150 (EP = 1,9076) + 0,7994 (EP = 0,1325) × IOC (%); ⁴Y= 25,2723 (EP = 2,4291) + 0,8832 (EP = 0,1407) × IOC (%); ⁵Y= 10,2394 (EP = 0,6305) – 0,3027 (EP = 0,7222) × IOC (%); ⁶Y= 11,3236 (EP = 0,4319) – 0,2560 (EP = 0,7250) × IOC (%); ⁷Y= 1,6660 (EP = 0,2515) – 0,8361 (EP = 0,2670) × IOC (%).

A inclusão do óleo de canola na dieta de vacas em lactação reduziu linearmente o consumo de matéria seca e dos nutrientes, a digestibilidade aparente total da FDN, a concentração do ácido acético, butírico e a relação acetato/propionato conforme a inclusão de óleo de canola na dieta. Os efeitos dos níveis de inclusão do óleo de canola

apresentam resultados e uma sequência lógica do metabolismo dos ruminantes. Porém, pelo nível de inclusão de óleo e pelo grau de insaturação, os seus efeitos no metabolismo das vacas não apresentam-se de forma deletéria, em função dos benefícios que o uso de lipídios na dieta de vacas em lactação promove no leite produzido para a saúde humana.

4.4 Conclusão

A inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação reduz o consumo de matéria seca, a digestibilidade da FDN, a concentração de ácido acético, porém não causa problemas à saúde das vacas, pois os parâmetros sanguíneos ainda encontram-se dentro da normalidade para vacas em lactação.

Referências Bibliográficas

- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis**. 16. ed. Arlington, VA. Washington (USA): AOAC, 1995.
- BERGMEYER, H. D. Methods of enzymatic analysis. **Stasrch**, v. 37, p. 33, 1985.
- DIRKSEN, G.; BREITNER, W. New quick-test for semi quantitative determinations of beta-hydroxybutyric acid in bovine milk. **Journal Veterinary Medical Animal Physiology Pathology Clinical Medical**, v.40, p.779-784, 1993.
- CASALI, A. O. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa.v. 37, n. 2, p. 335-342, 2008.
- CAVALIERI, F. L. B. et al. Milk production and milk composition of dairy cows fed Lac100 ® or whole flaxseed. **Journal of Animal Science**. Illinois. v.85, p413-416, 2005.
- EDMONSON, A. J. et al. A body condition scoring chat for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign. v.72, p.68-78, 1989.
- ERWIN, E. S.; MARCO, G. J.; EMERY, E. M. Volatile fatty acid analyzes of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**. Champaign. v. 44, n. 9, p. 1768-1771, 1961.

FRANKLIN, S. T. et al. Dietary marine algae (*Schinzochytrium sp*) increases concentrations of conjugated linoleic, docosahexaenoic and transvaccenic acids in milk of dairy cows. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.129, p.2048-2052, 1999.

GONZÁLES, F. H. D.; BORGES, J. B.; CECIM, M. **Uso de provas de campo e de laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais em bovinos**. Porto Alegre, 2000.

GRANDE, P. A. SANTOS, G. T. **O uso de perfil metabólica na nutrição de vacas leiteiras**. Artigos técnicos da série Nutrição e Manejo Animal do Núcleo Pluridisciplinar de Pesquisa e Estudo da Cadeia Produtiva do Leite. Universidade Estadual de Maringá, Maringá. Disponível em: <http://www.nupel.uem.br/perfilmetabolico-vacas.pdf>. Acesso em 30 de setembro de 2014.

HALL, M. B. **Neutral detergent-soluble carbohydrates: nutritional relevance and analysis, a laboratory manual**. Gainesville: University of Florida, 2000. (Extension Bulletin, 339).

ÍTAVO, L. C. V., et al. Comparação de Indicadores e Metodologia de Coleta para Estimativas de Produção Fecal e Fluxo de Digesta em Bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa. v.31, p.1833-1839, 2002.

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

JENKINS, T. C.; MCGUIRE, M. A. Major advances in nutrition: impact on milk composition. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.1302-1310, 2006.

KLUSMEYER, T. H., CLARK, J. H. Effect of fat and protein on fatty acid flow to the duodenum and in milk produced by dairy cows. **Journal of Dairy Science**. Champaign. v.74, p.3055-3067, 1991.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Editora UFSM, Santa Maria: UFSM, 2002, 139p.

LÓPEZ, S. E.; LÓPEZ, J.; STUMPF JUNIOR, W. Parâmetros séricos de vacas leiteiras na fase inicial de lactação suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Archivos Latinoamerica Produccion Animal**. v.12, p.96-102, 2004.

MARCHI, F. E. **Grãos de girassol peletizados e/ou tratados com lignosulfonato na dieta de vacas leiteiras confinadas: ingestão, digestibilidade e parâmetros ruminais**. 2010. 57f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

MATURANA FILHO, M. **Efeito das condições metabólicas de vacas leiteiras durante o período de transição e início de lactação sobre a saúde e fertilidade no inverno e no verão**. 2013. 152f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, 2002.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7th rev. ed. Natl.Acad. Sci., Washington, DC. 2001.

OLIVEIRA, R. L. et al. Desempenho produtivo e custos com alimentação de novilhos bubalinos alimentados com dietas com diferentes fontes de lipídeos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.757-732, 2007.

PALMQUIST, D. L.; JENKIS, T. C. Fat in lactation rations. **Journal of Dairy Science**. Champaign., v.63, p.1-14, 1980.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de lipídios. In: BERCHIELLI, T. T.; VAZ PIREZ, A. OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep. 2006, cap.10, p.287-310.

SNIFFEN, C. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability **Journal Animal Science**, Illinois, v.70, p. 3562-3577, 1992.

SOUZA, S. M. **Desempenho e perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com óleo de girassol em dietas a base de cana-de-açúcar**. 2011. 87f Tese(Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS. **Statistical analysis user's guide**. Version 8.2. Cary, 2001. 1686 p.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B.A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, p.3583-3597, 1991.

VALADARES FILHO, S. C; PINA, D. S. Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T. T.; VAZ PIREZ, A. OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep. 2006, cap.10, p.287-310.

WILDMAN, E.E.; JONES, G.M.; WAGNER, P.E. et al. A dairy body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. . **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.65, p.495-501, 1982.

WITTWER, F. Marcadores bioquímicos no controle de problemas metabólicos nutricionais em gado de leite. In: GONZÁLEZ, F.H.D., BARCELLOS, J.O., OSPINA, H. et al. (Eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.53-62, 2000.

4. CAPÍTULO II

Inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação e seus efeitos sobre a produção e composição do leite

Resumo

Com o intuito de produzir um leite mais saudável para o consumo humano, objetivou-se com o presente estudo avaliar o efeito da inclusão de níveis de óleo de canola na dieta de vacas em lactação sobre a produção e composição do leite. Foram utilizadas 18 vacas de raça Holandês, com produção média de 22 ($\pm$ 4) kg/dia, estágio intermediário de lactação. As vacas foram distribuídas em delineamento quadrado latino, com 6 quadrados contemporâneos, 3 períodos e 3 tratamentos: T1= dieta controle (sem adição de óleo); T2= inclusão de 3% de óleo de canola na dieta e T3= inclusão de 6% de óleo de canola na matéria seca da dieta. O perfil de ácidos graxos foi determinado pelo método de cromatografia gasosa. A inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação reduziu linearmente a produção de leite em 2,51 kg/vaca/dia, os ácidos graxos de cadeia curta em 41,42%, ácidos graxos de cadeia média em 27,32%, ácidos graxos saturados em 20,24%, a relação ácidos graxos saturados/insaturados em 39,20%, relação ω 6/ ω 3 em 39,45%, índice de aterogenicidade em 48,36%, índice de trombogenicidade em 39,86% no tratamento 6% quando comparado ao tratamento controle. Ao incluir 6% de óleo de canola na dieta das vacas houve um aumento linear na concentração de ácidos graxos de cadeia longa em 45,91%, ácidos graxos insaturados em 34,08%, ácidos graxos monoinsaturados em 40,37%, ácidos graxos poliinsaturados em 17,88%, a concentração do ω 3 no leite em 115%, ácido rumênico (CLA) em 16,50%, ácido oleico em 44,87% e o índice h/H em 94,44% em comparação ao tratamento controle. A inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação reduz linearmente a produção de leite e a gordura do leite, porém aumenta linearmente a concentração de ácidos graxos benéficos para a saúde humana como ácidos graxos mono e poliinsaturados, CLA, ω 3 e ácido oleico no leite.

Palavras-chave: ω 3, CLA, ácido oleico, leite funcional.

4.1 Introdução

As produções agrícolas e pecuárias têm importância fundamental no desenvolvimento de qualquer país, tanto no setor econômico, quanto no fornecimento de alimentos para a população. O consumo de leite e de produtos lácteos no Brasil vem crescendo gradativamente conforme o aumento da renda da população. No entanto, o consumo médio da população brasileira ainda se encontra abaixo do recomendado pelo Ministério da Saúde e Organização Mundial da Saúde, sendo que uma pessoa adulta deveria consumir cerca de 210 litros de leite por ano, porém, a produção de leite no Brasil é capaz somente de fornecer cerca de 170 litros de leite/habitante/ano (MAPA, 2014).

Em busca de alternativas para melhorar o perfil da pecuária leiteira, são desenvolvidas estratégias nutricionais não apenas para aumentar a quantidade de leite produzido, mas também melhorar a qualidade do leite para atender as necessidades do consumidor. O leite é um dos alimentos mais consumidos mundialmente, portanto é necessário torna-lo cada vez mais saudável para o consumo humano, porém sem afetar a saúde das vacas.

O perfil de ácidos graxos ingeridos na dieta humana tem sido alterado, ao longo da evolução dos padrões alimentares. A dieta das sociedades primitivas era completamente diferente das atuais, onde o consumo de alimentos industrializados tornou-se uma necessidade tendo em vista a praticidade e rapidez do preparo das refeições. Ao contrário das sociedades primitivas, atualmente o consumo de gorduras saturadas tornou-se um hábito comum, e o consumo de alimentos naturais tornou-se algo escasso. No entanto, essa mudança nos hábitos alimentares vem desencadeando consequências muito graves a saúde da população.

O leite bovino é caracterizado por apresentar uma grande proporção de ácidos graxos saturados, sendo alguns destes apontados como precursores do colesterol sanguíneo de baixa densidade (LDL), responsável por doenças cardiovasculares (EIFERT, 2006). Com o intuito de modificar a composição do leite, visasse aumentar a concentração de ácidos graxos de cadeia longa, mono e poliinsaturados na composição do leite, sendo de extrema importância, pois são esses ácidos que atuam na redução de doenças degenerativas (SANTO-ZAGO; BOTELHO; OLIVEIRA, 2008).

O óleo de canola é rico em ácidos graxos insaturados, como ácido oleico, alfa-linolênico (C18:3 n3) e o C18:2 *cis*9 *cis*12 (ácido graxo precursor do CLA – C18:2 *cis*9 *trans*11). Estes ácidos graxos apresentam diversos benefícios para a saúde humana. Adicionar óleo de canola na dieta de vacas em lactação pode modificar o perfil de ácidos graxos do leite, devido aos benefícios que o óleo de canola carrega em sua composição.

Nos últimos anos algumas evidências têm demonstrado os efeitos benéficos do ácido oleico na saúde humana, pelo fato dele apresentar efeitos moduladores e amplas funções fisiológicas, onde alguns estudos sugerem efeito benéfico sobre o câncer, doenças autoimunes e inflamatórias, além da sua capacidade para facilitar a cicatrização de feridas (SALES-CAMPOS et al., 2013).

Em revisão realizada por Lin et al. (2013) devido grande quantidade de ácidos graxos monoinsaturados presentes no óleo de canola, alguns estudos demonstraram efeitos benéficos do óleo de canola sobre doenças cardiovasculares através da regulação de lipídios plasmáticos e lipoproteínas, além de aumentar as necessidades diárias de ômega 3, melhorando o equilíbrio ômega6/ômega3 na dieta.

A necessidade do equilíbrio da relação ômega6/ômega3 deve-se ao fato do ômega 6 apresentar efeitos pró-inflamatórios, ou seja, aumenta a produção de citocinas com ação vasoconstritora, que promove agregação plaquetária, estando relacionado a ocorrência de doenças cardiovasculares, autoimunes e inflamatórias como a artrite, asma, psoríase, lúpus e colite ulcerativa. Já o ômega 3 apresenta propriedades anti-inflamatórias, promove vasodilatação e inibição de agregação plaquetária e está relacionado à prevenção de hipertensão, aterosclerose, hipercolesterolemia, artrites e outras doenças auto-imunes e inflamatórias, bem como os mais diversos cânceres (MARTIN et al., 2006).

O ácido linoleico conjugado (CLA) tem apresentado uma série de efeitos benéficos à saúde, além de apresentar propriedades anticarcinogênicas, tem efeito na alteração da partição de nutrientes, antidiabetogênicos, redução no desenvolvimento de aterosclerose, aumentos da mineralização óssea e modulação do sistema imune. Com este intuito, é imprescindível a adição de ácidos graxos insaturados na dieta de vacas em lactação aumentando de forma natural o CLA e diminuindo o teor de gordura no leite, melhorando assim a imagem dos produtos lácteos junto ao consumidor, uma vez que este está preferindo os alimentos que possuam menor teor de gordura (LEITE, 2006).

Com o intuito de produzir um leite mais saudável para o consumo humano, objetivou-se com o presente estudo avaliar o efeito da inclusão de níveis de óleo de canola na dieta de vacas em lactação sobre a produção e composição do leite.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Animais, manejo e instalações

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos/Universidade de São Paulo, em Pirassununga, São Paulo, entre os meses de abril à junho de 2014. Foram utilizadas 18 vacas de raça Holandês, com produção média de 22 ($\pm$ 4) kg/dia, estágio intermediário de lactação (em torno de 190 $\pm$ 40 dias) e peso vivo médio de 564 ($\pm$ 70) kg. Nenhuma vaca estava prenhe. As vacas foram selecionadas por produção de leite, fase de lactação e número de partos.

Os animais foram alojados em baias individuais para avaliação do consumo voluntário. A oferta e as sobras dos alimentos foram pesadas diariamente, permitindo controle de 10% de sobra no cocho. A dieta foi fornecida uma vez ao dia às 06:30 horas, onde a mistura do volumoso e concentrado foi efetuada de forma manual, sendo a proporção volumoso:concentrado 50:50 respectivamente. Após a ordenha da tarde, foi realizada uma nova mistura no cocho de cada animal para estimular o consumo. A ordenha foi realizada duas vezes ao dia, às 7:00 e às 15:00 horas, em sala de ordenha tipo espinha de peixe e sistema canalizado, seguindo as medidas gerais de higiene, realização de *pré* e *pós-dipping* com anti-séptico.

4.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e dieta

O experimento foi conduzido durante três períodos de 21 dias, sendo 14 dias de adaptação às dietas e sete de coletas. As vacas foram distribuídas em delineamento quadrados latino, com 6 quadrados contemporâneos, 3 períodos e 3 tratamentos: T1= dieta controle (sem adição de óleo); T2= inclusão de 3% de óleo de canola na dieta e T3= inclusão de 6% de óleo de canola na matéria seca da dieta (Tabela 8). As dietas foram formuladas conforme as recomendações do NRC (2001).

Tabela 8 - Ingredientes e composição química das dietas experimentais.

Variáveis	Inclusão de óleo de canola		
	Controle	3%	6%
Ingredientes % MS			
Milho moído	29,73	26,14	22,53
Farelo de soja	17,47	18,06	18,67
Sal comum	0,50	0,49	0,49
Sal mineral	1,38	1,38	1,38
Fosfato bicálcico	0,11	0,14	0,14
Ureia	0,50	0,49	0,49
Calcário	0,23	0,24	0,24
Óleo de canola	-	3,0	6,0
Silagem de milho	50,02	50,0	50,0
Composição Bromatológica % MS			
MS	63,85	63,85	64,13
MM	3,90	3,88	3,86
MO	96,09	96,11	96,13
FDN	29,90	29,63	29,37
FDA	18,42	18,35	18,28
FDAi	6,90	6,87	6,83
Lignina	3,59	3,58	3,56
EE	3,19	6,01	8,82
PB	17,05	17,02	16,99
CT	75,84	73,08	70,31
CNF	45,93	43,44	40,94
NDT	66,93	69,14	72,78
EL _i , Mcal/Kg	1,52	1,57	1,66

4.2.3 Produção e amostras de leite

A produção de leite foi mensurada diariamente em medidor eletrônico de fluxo (DeLaval®) da ordenha mecânica e os resultados foram anotados em planilhas. A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura foi calculada segundo Sklan et al. (1994). Foi coletada uma amostra de leite de cada animal, composta pelas duas ordenhas, manhã e tarde proporcionalmente. Essa coleta foi repetida durante 3 dias consecutivos em cada período experimental, em tubo coletor de 100 mL contendo conservante, uma pastilha de bronopol, e homogeneizada.

As análises foram feitas para os seguintes componentes: gordura, proteína, lactose, sólidos totais pelo processo de infravermelho através do analisador Bentley 2000 (Bentley Instruments®); nitrogênio ureico foi determinado por método enzimático espectrofotométrico pelo analisador ChemSpec 150 (Bentley Instruments®) e contagem de células somáticas por citometria de fluxo, utilizando-se os aparelhos Bentley 2000®

e Somacount 300®. O extrato seco desengordurado (ESD) foi obtido pela diferença do teor de gordura e de sólidos totais do leite

4.2.4 Perfil de ácidos graxos dos alimentos e do leite

Foram coletadas amostras dos ingredientes que compõem a dieta para análise de perfil de ácidos graxos dos alimentos (Tabela 9), sendo congeladas a -20°C para posterior análise. As amostras foram submetidas à determinação dos ácidos graxos que os compõem conforme a metodologia descrita por Rodrigues-Ruiz et al. (1998) para extração da gordura seguida pela metilação.

Tabela 9 - Composição de ácidos graxos (% do total de ácidos graxos) das dietas experimentais.

Ácidos Graxos	Inclusão de óleo de canola			
	Controle	3%	6%	Óleo de Canola
C 6:0	0,0238	0,0237	0,0236	-
C 8:0	0,0104	0,0105	0,0106	-
C 10:0	0,0080	0,0083	0,0085	0,009
C 12:0	0,0197	0,0199	0,0200	0,018
C 12:1	0,0655	0,0655	0,0655	-
C 13:0	0,0205	0,0205	0,0205	-
C 13:0 Anteiso	0,1758	0,1769	0,1779	-
C 14:0	0,1812	0,1820	0,1828	0,079
C 15:0	0,0942	0,0943	0,0944	0,016
C 15:0 Anteiso	0,0203	0,0230	0,0230	-
C 15:0 Iso	0,0170	0,0171	0,0172	0,003
C 15:1	0,0060	0,0052	0,0045	-
C 16:0	18,1193	17,8229	17,5189	4,789
C 16:0 Iso	0,1320	0,1352	0,1383	-
C 16:1 c-9	0,0565	0,0538	0,0512	0,218
C 17:0	0,0397	0,0393	0,0389	0,019
C 17:0 Iso	0,0660	0,0660	0,0660	-
C 17:1	0,0205	0,0207	0,0208	0,028
C 18:0	2,6762	2,6890	2,7008	2,342
C 18:1 c-9	22,2865	22,9765	23,6548	57,918
C 18:1 c-11	1,7018	1,7563	1,8100	4,18
C 18:1 c-12	0,7777	0,8001	0,8221	1,735
C 18:1 c-13	0,5395	0,5541	0,5684	1,014
C 18:1 t-10-11-12	0,0210	0,0210	0,0210	-
C 18:2 c-9 c-12	43,1420	42,3598	41,5614	17,222
C 18:3 n-3	5,4583	5,6814	5,9014	7,491
C 18:3 n-6	0,2524	0,2599	0,2673	0,53
C 20:0	-	0,0003	0,0006	0,01
C 20:1	0,3599	0,3921	0,4240	1,314
C 21:0	-	0,0003	0,0005	0,009
C 22:0	0,2195	0,2259	0,2321	0,293
C 22:1	0,0035	0,0046	0,0058	0,038
C 23:0	0,0712	0,0718	0,0724	0,02
C 24:0	0,1398	0,1417	0,1436	0,196
C 24:1	-	-	-	0,096

As amostras de leite para determinação do perfil de ácidos graxos foram coletadas no último dia de cada período experimental em um tubo coletor sem conservante. Após a coleta, as amostras foram congeladas a -20°C. A extração da gordura foi realizada por meio do método descrito por Hara e Randin (1978) para então ser metilada pelo método de Cristie (1982).

As amostras metiladas foram analisadas em cromatógrafo a gás modelo Focus CG- Finnigan, com detector de ionização de chama, coluna capilar CP-Sil 88 (Varian),

com 100 m de comprimento por 0,25µm de diâmetro interno e 0,20µm de espessura do filme. Foi utilizado o hidrogênio como gás de arraste, numa vazão de 1,8 mL/minuto. O programa de temperatura do forno inicial foi de 70°C e tempo de espera de 4 minutos, 175°C (13°C/minuto) tempo de espera 27 minutos, 215°C (4°C/minuto) tempo de espera 9 minutos e em seguida aumentando 7°C/minuto até 230°C, permanecendo por mais 5 minutos, totalizando 65 minutos. A temperatura do vaporizador foi de 250°C e a do detector foi de 300°C.

Uma alíquota de 1 µL do extrato esterificado foi injetada no cromatógrafo e a identificação dos ácidos graxos foi realizada pela comparação dos tempos de retenção e as percentagens dos ácidos graxos foram obtidas através do *software – Chromquest 4.1* (Thermo Electron, Italy).

Os ácidos graxos foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos das amostras com padrões de ácidos graxos de manteiga. Os ácidos graxos foram quantificados por normalização das áreas dos ésteres metílicos. Padrões utilizados: Supelco TM Component FAME Mix, cat 18919 Supelco, Bellefonte, PA.

A qualidade nutricional da fração lipídica do leite foi avaliada por três índices a partir dos dados de composição dos ácidos graxos, através dos seguintes cálculos: Índice de Aterogenicidade (IA) = [(C12:0 + (4 x C14:0) + C16:0)]/(ΣAGMI + Σω6 + Σω3); Índice de Trombogenicidade (IT) = (C14:0 + C16:0 + C18:0)/[(0,5 x ΣAGMI) + (0,5 x Σω6 + (3 x Σω3) + (Σω3/Σω6)], segundo Ulbricht e Southgate (1991); e razão entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (h/H) = (C18:1_{cis}9 + C18:2ω6 + C18:3ω3 + C20:5ω3 + C22:6ω3)/(C14:0 + 16:0), segundo Santos-Silva et al. (2002).

3.2.5 Análise estatística

Os resultados foram analisados pelo programa computacional Statistical Analysis System® (SAS, 2001), após verificação da normalidade dos resíduos e da homogeneidade das variâncias pelo Proc-UNIVARIATE. Com a distribuição normal dos dados, o procedimento estatístico adotado foi de acordo com os efeitos principais dos tratamentos, pelo comando Proc-MIXED do SAS (versão 9.0), adotando-se nível de significância de 5%, de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + Q_j + A(Q)_k + P_l + e_{ijkl}$$

em que Y_{ijkl} = é o valor observado; μ = média geral; T_i = efeito fixo de tratamento i , $i=1$ a 3; Q_j = efeito fixo do quadrado latino j , $j = 1$ a 3; $A(Q)_k$ = efeito aleatório do animal k dentro de cada quadrado latino, $k = 1$ a 18; P_l = efeito fixo do período l , $l = 1$ a 3; E_{ijkl} = erro aleatório associado a cada observação. Os graus de liberdade foram calculados de acordo com o método Satterthwaite (DDFM = Satterth).

O efeito de tratamento foi decomposto em dois contrastes polinomiais ortogonais (linear e quadrático). Os interceptos e os coeficientes angulares foram obtidos utilizando a opção “estimate” do procedimento MIXED. As equações de regressão foram escolhidas de acordo com o critério de informação bayseano (BIC), erro padrão das estimativas e comportamento biológico dos dados.

3.3 Resultados e Discussão

A produção de leite, kg/vaca/dia, apresentou uma redução linear conforme a inclusão do óleo de canola na dieta das vacas, onde o tratamento 6% apresentou a maior redução, 2,51 kg/vaca/dia, em relação ao tratamento controle (Tabela 10). A inclusão de óleo de canola, 3 e 6% na MS seca da dieta ocasionou redução no consumo e na digestibilidade da MS e dos nutrientes, modificando a fermentação ruminal o que pode reduzir a taxa de passagem da digesta, e consequentemente, o fluxo de nutrientes para a glândula mamária, repercutindo na redução da produção de leite.

O teor e a produção de gordura bruta (GB) reduziram de forma quadrática e linear conforme o aumento do nível de inclusão de óleo de canola na dieta das vacas. O ponto de máxima redução do teor da GB do leite ocorreu com a inclusão de 4,5% de óleo na dieta. A produção de GB reduziu linearmente conforme a inclusão do óleo, apresentando uma redução de 0,13 kg/vaca/dia no tratamento 6% em relação ao controle. A inclusão de lipídios insaturados na dieta de vacas leiteiras reduz a gordura do leite devido a ação de ácidos graxos *trans*, proveniente da biohidrogenação ruminal parcial dos ácidos graxos da dieta, que inibem a ação das enzimas lipogênicas (Acetil-CoA Carboxilase e Sintase de Ácido Graxo) que atuam na síntese *de novo* na glândula mamária. Estas enzimas são responsáveis pela formação de ácidos graxos de até 16 carbonos, reduzindo assim, os ácidos graxos de cadeia curta e média que constituem cerca de 60% da gordura do leite, aumentando os ácidos graxos de cadeia longa (BAUMAN, HARVATINE, LOCK, 2011), como pode ser observado no presente

estudo na tabela 11. Há uma redução linear na concentração de ácidos graxos até o C17:1 e um aumento linear no ácidos graxos acima de C18:0 conforme a inclusão do óleo de canola.

Conforme Leite (2006) entre ácidos graxos *trans* que atuam na depressão da gordura do leite podem ser mencionados o C18:2 *trans*10 *cis*12, C18:1 *trans*10 e C18:1 *trans*11, ácidos graxos formados através da biohidrogenação parcial dos ácidos graxos presentes no rúmen. Apesar da concentração do C18:2 *trans*10 *cis*12, que é o principal ácido graxo responsável pela redução da gordura do leite, ser pouca e não ter sido detectada neste estudo, o aumento linear dos ácidos graxos C18:1 *trans*10 e C18:1 *trans*11 foram os responsáveis pela redução da gordura do leite. No presente estudo na tabela 11 pode-se observar que os ácidos graxos C18:1 *trans*10, 11 e 12 não foram identificados separadamente, no entanto, pode-se observar um aumento linear destes ácidos graxos conforme a inclusão do óleo de canola, apresentando um aumento de 84,57% no tratamento 6% em relação ao tratamento controle. Esses resultados corroboram com a literatura para a depressão da gordura do leite.

O óleo de canola contém uma grande quantidade de ácidos graxos insaturados, neste trabalho o óleo utilizado apresentou 91,7%. Muitos desses ácidos graxos devem passar pelo rúmen sem sofrer biohidrogenação ou ocorre a biohidrogenação parcial dos ácidos graxos, devido a grande quantidade de ácidos graxos insaturados presentes no rúmen. Essas teorias são confirmadas ao observar o perfil de ácidos graxos do leite (tabela 11). O ácido esteárico, a última etapa para a biohidrogenação completa, aumentou 3,25 g/100g de AG no tratamento 3% de óleo de canola em relação ao controle, no entanto, no tratamento 6% aumentou apenas 0,55 g/100g de AG em relação ao tratamento 3%. Esse resultado sugere que a partir do tratamento 3% de óleo de canola a biohidrogenação parcial ou incompleta foi maior, acarretando em maior quantidade de ácidos graxos insaturados que seguiram o fluxo do trato gastrointestinal.

Esses ácidos graxos insaturados são absorvidos pelo epitélio intestinal e nos enterócitos os ácidos graxos são re-esterificados à triacilgliceróis e organizados em quilomicrons e lipoproteínas de densidade muito baixa, e por meio do sistema linfático chegam a corrente sanguínea onde são direcionados aos tecidos periféricos, como a glândula mamária, aumentando os ácidos graxos insaturados na gordura do leite, (PALMQUIST, MATTOS, 2006) o que trás benefícios à saúde humana.

O teor de PB do leite apresentou um aumento linear conforme a inclusão do óleo de canola, resultando em 0,32% de PB a mais no tratamento 6% em relação ao controle.

No entanto, a produção de PB kg/vaca/dia não apresentou diferença entre os tratamentos. O aumento do teor de PB do leite é decorrente da redução da produção de leite conforme a inclusão do óleo, concentrando a PB. A proteína é um componente do leite de difícil manipulação, a qual se mantém estável quando é adicionado óleo de canola na dieta de vacas leiteiras.

O teor de lactose não diferiu entre os tratamentos, porém a produção de lactose reduziu linearmente com a inclusão do óleo de canola, sendo que, as vacas alimentadas com 6% de óleo reduziram a produção de lactose em 0,11 kg/vaca/dia em relação ao tratamento controle. Esse fato pode ser explicado pela redução do consumo dos animais e do fluxo de nutrientes para a glândula mamária, especialmente a glicose.

O teor de sólidos totais não diferiu estatisticamente entre os tratamentos. No entanto, a produção de sólidos totais kg/vaca/dia foi reduzida pela inclusão de óleo de canola na dieta, resultado decorrente da também redução da produção da lactose e GB conforme a inclusão do óleo. Porém, a produção da proteína do leite não diferiu entre os tratamentos, apenas no teor, não compensando a redução da produção das variáveis acima mencionadas.

O teor do ESD aumentou linearmente de acordo com a inclusão de óleo de canola. Porém, a inclusão de óleo reduziu a produção de ESD. Essa inversão poder ser justificada pelo fato da produção de leite ser menor no tratamento 6%, concentrado o teor do ESD. Já a produção de ESD reduziu acompanhando a produção de leite. As variáveis CCS e NUL não diferiram estatisticamente entre os tratamentos (Tabela 10).

Tabela 10 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre a produção e composição do leite.

Variáveis	Inclusão de óleo de canola			Média	EPM*	P**	
	Controle	3%	6%			L	Q
PL ¹ kg/vaca/dia	23,50	22,46	20,99	22,28	0,69	0,0001	0,62
PLC ² kg/vaca/dia	23,46	20,88	19,88	21,45	0,73	0,0001	0,105
GB ³ %	3,48	3,13	3,18	3,27	0,08	0,009	0,04
GB ⁴ kg/vaca/dia	0,79	0,69	0,66	0,71	0,03	0,0002	0,18
PB ⁵ %	3,58	3,73	3,90	3,72	0,06	0,0001	0,81
PB kg/vaca/dia	0,82	0,80	0,81	0,82	0,02	0,58	0,55
LACT %	4,44	4,46	4,45	4,45	0,03	0,83	0,51
LACT ⁶ kg/vaca/dia	1,04	1,01	0,93	1,002	0,03	0,001	0,34
ESD ⁷ %	8,95	9,19	9,30	9,15	0,07	0,0003	0,43
ESD ⁸ kg/vaca/dia	2,09	2,06	1,96	2,04	0,05	0,005	0,405
ST %	12,34	12,32	12,60	12,41	0,13	0,16	0,34
ST ⁹ kg/vaca/dia	2,88	2,70	2,62	2,74	0,08	0,001	0,42
CCS mil células/mL	427,86	362,07	306,62	358,85	46,89	0,11	0,93
NUL, mg/dL	19,58	18,58	18,91	18,94	0,36	0,23	0,16

*EPM= erro padrão da média; P** L= Probabilidade para efeito linear, Q= Probabilidade para efeito quadrático. PL= produção de leite; PLC= produção de leite corrigida para 3,5%; GB= gordura bruta; PB= proteína bruta; LACT= lactose; ESD= extrato seco desengordurado; ST= sólidos totais; CCS= contagem de células somáticas; NUM= nitrogênio ureico no leite.

Equações: ¹Y = 23,57 (EP = 1,16) - 0,42 (EP = 0,08) × IOC (%); ²Y = 23,24(EP = 1,27)-0,59(EP = 0,09) × IOC (%); ³Y = 3,48 (EP = 0,17) - 0,18 (EP = 0,06) × IOC (%) + 0,02 (EP = 0,01) × IOC² (%²); ⁴Y = 0,78 (EP = 0,05)-0,02 (EP = 0,005) × IOC (%); ⁵Y = 3,58 (EP = 0,11) + 0,05 (EP = 0,01) × IOC (%); ⁶Y = 1,05 (EP = 0,05) - 0,01 (EP = 0,003) × IOC (%); ⁷Y = 8,95 (EP = 0,12) + 0,09 (EP = 0,05) × IOC (%); ⁸Y = 2,10 (EP = 0,10) - 0,02 (EP = 0,007) × IOC (%); ⁹Y = 2,87 (EP = 0,145) - 0,04 (EP = 0,012) × IOC (%).

A gordura do leite é naturalmente composta, em sua maioria, por ácidos graxos de cadeia curta e média. Porém, a medida que foi adicionado óleo de canola à dieta de vacas em lactação a composição do leite apresentou outro perfil. O óleo de canola é composto em seu maior percentual por ácidos graxos insaturados, dentre estes em sua maior proporção pelo ácido oleico (57,9%), C18:2 *cis*9 *cis*12 (17,22%) precursor do CLA C18:2 *cis*9 *trans* 11 e ácido alfa-linolênico (7,49%) (dados de composição do óleo utilizado neste trabalho).

Há evidências que alguns ácidos graxos encontrados nos produtos de origem animal, como leite e carne de ruminantes, apresentam benefícios fisiológicos específicos, que enriquecem ainda mais esses produtos que são de extrema importância para a saúde humana. Entre esses ácidos graxos podemos identificar o aumento de 9,86 g/100g de AG do ácido oleico, 0,086 g/100g de AG do CLA C18:2 *cis*9 *trans* 11 e o alfa-linolênico que é o principal ácido graxo que compõem a série ômega 3 (C18:3 n3) 0,16 g/100g de AG no tratamento 6% em relação ao tratamento controle (Tabela 11).

Tabela 11 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre o perfil de ácidos graxos do leite (g/100g AG).

Variáveis	Inclusão de óleo de canola			Média	EPM*	P**	
	Controle	3%	6%			L	Q
C4:0 ¹	2,30	1,91	1,68	1,95	0,08	<0,0001	0,436
C6:0 ²	1,60	1,17	0,96	1,23	0,06	<0,0001	0,061
C8:0 ³	1,06	0,69	0,56	0,76	0,04	<0,0001	0,008
C10:0 ⁴	2,42	1,56	1,24	1,72	0,08	<0,0001	0,002
C10:1 ⁵	0,31	0,19	0,15	0,21	0,01	<0,0001	0,003
C11:0 ⁶	0,09	0,04	0,03	0,06	0,007	<0,0001	0,068
C12:0 ⁷	3,45	2,35	1,96	2,57	0,10	<0,0001	0,0009
C12:1 ⁸	0,12	0,08	0,06	0,08	0,005	<0,0001	0,003
C13:0 ⁹	0,19	0,13	0,11	0,14	0,009	<0,0001	0,140
C13:0 <i>Anteiso</i> ¹⁰	0,10	0,07	0,06	0,08	0,005	<0,0001	0,012
C13:0 <i>Iso</i> ¹¹	0,036	0,034	0,027	0,03	0,001	<0,0001	0,171
C14:0 ¹²	11,88	9,82	8,61	10,05	0,24	<0,0001	0,061
C14:0 <i>Iso</i> ¹³	0,037	0,030	0,027	0,03	0,001	0,001	0,397
C14:1 <i>cis</i> 9 ¹⁴	1,65	1,41	1,19	1,37	0,08	0,0001	0,898
C15:0 ¹⁵	1,29	0,98	0,82	1,03	0,05	<0,0001	0,339
C15:0 <i>Anteiso</i> ¹⁶	0,48	0,39	0,31	0,39	0,01	<0,0001	0,653
C15:0 <i>Iso</i> ¹⁷	0,22	0,18	0,16	0,19	0,006	<0,0001	0,340
C16:0 ¹⁸	30,45	24,84	22,32	25,69	0,60	<0,0001	0,001
C16:0 <i>Iso</i>	0,21	0,20	0,19	0,19	0,01	0,256	0,936
C16:1 <i>cis</i> 9 ¹⁹	2,63	2,21	1,91	2,21	0,12	<0,0001	0,694
C17:0 ²⁰	0,44	0,34	0,28	0,36	0,01	<0,0001	0,164
C17:0 <i>Iso</i> ²¹	0,22	0,19	0,17	0,19	0,006	<0,0001	0,415
C17:1 ²²	0,16	0,15	0,11	0,14	0,008	0,010	0,423
C18:0 ²³	7,97	11,22	11,77	10,31	0,37	<0,0001	0,002
C18:1 <i>cis</i> 9 ²⁴	21,97	28,57	31,83	27,62	0,66	<0,0001	0,0004
C18:1 <i>cis</i> 11 ²⁵	1,61	2,30	2,75	2,24	0,09	<0,0001	0,270
C18:1 <i>cis</i> 12 ²⁶	0,68	0,86	1,05	0,87	0,03	<0,0001	0,931
C18:1 <i>cis</i> 13 ²⁷	0,49	0,56	0,67	0,57	0,01	<0,0001	0,405
C18:1 <i>cis</i> 15 ²⁸	0,04	0,11	0,19	0,12	0,01	<0,0001	0,550
C18:1 <i>trans</i> 10,11,12 ²⁹	1,75	2,80	3,23	2,64	0,16	<0,0001	0,083
C18:1 <i>trans</i> 16 ³⁰	0,17	0,21	0,25	0,21	0,008	<0,0001	0,894
C18:1 <i>trans</i> 6,7,8,9 ³¹	0,52	0,91	1,28	0,92	0,06	<0,0001	0,870
C18:2 <i>cis</i> 9 <i>cis</i> 12	1,16	1,34	1,33	1,29	0,06	0,112	0,261
C18:2 <i>cis</i> 9 <i>trans</i> 11 ³²	0,521	0,520	0,607	0,530	0,035	0,032	0,126
C18:2 n6	0,035	0,033	0,040	0,035	0,003	0,345	0,345
C18:3 n3 ³³	0,19	0,36	0,35	0,30	0,01	<0,0001	0,003
C18:3 n6	0,032	0,028	0,028	0,03	0,001	0,352	0,438
C20:0 ³⁴	0,09	0,15	0,16	0,13	0,006	<0,0001	0,0002
C20:1 ³⁵	0,05	0,15	0,19	0,13	0,01	<0,0001	0,003
C20:2 ³⁶	0,01	0,01	0,009	0,01	0,0007	0,001	0,289
C20:3 n3	0,0018	0,0016	0,0010	0,0014	0,0002	0,224	0,688
C20:3 n6 ³⁷	0,06	0,05	0,04	0,05	0,002	<0,0001	0,255
C20:4 ³⁸	0,15	0,12	0,10	0,12	0,05	<0,0001	0,123
C20:5	0,012	0,011	0,011	0,011	0,0007	0,679	0,778
C21:0	0,005	0,006	0,005	0,005	0,0004	0,751	0,379
C22:0	0,01	0,02	0,02	0,02	0,001	0,129	0,550

Continua... Tabela 4 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre o perfil de ácidos graxos do leite (g/100g AG).

C22:1 ³⁹	0,009	0,01	0,02	0,01	0,001	<0,0001	0,848
C22:2	0,0018	0,0006	0,0009	0,0011	0,0002	0,093	0,119
C22:5 ⁴⁰	0,037	0,034	0,026	0,033	0,001	<0,0001	0,035
C22:6	0,0035	0,0033	0,0025	0,0031	0,0003	0,466	0,149
C23:0	0,011	0,012	0,009	0,011	0,0009	0,141	0,104
C24:0 ⁴¹	0,020	0,025	0,027	0,024	0,001	0,0004	0,186

*EPM= erro padrão da média; P** L= Probabilidade para efeito linear, Q= Probabilidade para efeito quadrático.

Equações: ¹Y = 2,27 (EP = 0,13) – 0,1044 (EP = 0,01863) × IOC (%); ²Y = 1,56 (EP = 0,08) – 0,1073 (EP = 0,01196) × IOC (%); ³Y = 1,01 (EP = 0,06) – 0,08340 (EP = 0,009465) × IOC (%); ⁴Y = 2,31 (EP = 0,11) – 0,1952 (EP = 0,01812) × IOC (%); ⁵Y = 0,29 (EP = 0,01) – 0,02695 (EP = 0,003061) × IOC (%); ⁶Y = 0,08 (EP = 0,02) – 0,00897 (EP = 0,001890) × IOC (%); ⁷Y = 3,33 (EP = 0,18) – 0,2475 (EP = 0,02227) × IOC (%); ⁸Y = 0,12 (EP = 0,008) – 0,01051 (EP = 0,001088) × IOC (%); ⁹Y = 0,19 (EP = 0,03) – 0,01330 (EP = 0,002715) × IOC (%); ¹⁰Y = 0,10 (EP = 0,009) – 0,00797 (EP = 0,000961) × IOC (%); ¹¹Y = 0,04 (EP = 0,004) – 0,00152 (EP = 0,000330) × IOC (%); ¹²Y = 11,73 (EP = 0,35) – 0,5427 (EP = 0,04444) × IOC (%); ¹³Y = 0,04 (EP = 0,004) – 0,00158 (EP = 0,000454) × IOC (%); ¹⁴Y = 1,63 (EP = 0,14) – 0,07407 (EP = 0,01660) × IOC (%); ¹⁵Y = 1,26 (EP = 0,12) – 0,07641 (EP = 0,01495) × IOC (%); ¹⁶Y = 0,48 (EP = 0,03) – 0,02891 (EP = 0,003460) × IOC (%); ¹⁷Y = 0,22 (EP = 0,01) – 0,01013 (EP = 0,001994) × IOC (%); ¹⁸Y = 29,87 (EP = 0,67) – 1,3417 (EP = 0,09978) × IOC (%); ¹⁹Y = 2,60 (EP = 0,20) – 0,1185 (EP = 0,02642) × IOC (%); ²⁰Y = 0,44 (EP = 0,02) – 0,02696 (EP = 0,002401) × IOC (%); ²¹Y = 0,22 (EP = 0,01) – 0,00959 (EP = 0,002020) × IOC (%); ²²Y = 0,16 (EP = 0,01) – 0,00692 (EP = 0,002857) × IOC (%); ²³Y = 8,44 (EP = 0,72) + 0,6303 (EP = 0,09155) × IOC (%); ²⁴Y = 22,59 (EP = 0,85) + 1,6312 (EP = 0,1001) × IOC (%); ²⁵Y = 1,66 (EP = 0,18) + 0,1886 (EP = 0,02049) × IOC (%); ²⁶Y = 0,68 (EP = 0,04) + 0,06143 (EP = 0,008259) × IOC (%); ²⁷Y = 0,48 (EP = 0,05) + 0,03046 (EP = 0,005550) × IOC (%); ²⁸Y = 0,04 (EP = 0,02) + 0,02508 (EP = 0,002957) × IOC (%); ²⁹Y = 1,87 (EP = 0,33) + 0,2451 (EP = 0,03506) × IOC (%); ³⁰Y = 0,17 (EP = 0,01) + 0,01330 (EP = 0,002651) × IOC (%); ³¹Y = 0,53 (EP = 0,09) + 0,1265 (EP = 0,01586) × IOC (%); ³²Y = 0,49 (EP = 0,06) + 0,01709 (EP = 0,005881) × IOC (%); ³³Y = 0,22 (EP = 0,03) + 0,02756 (EP = 0,006386) × IOC (%); ³⁴Y = 0,10 (EP = 0,01) + 0,01114 (EP = 0,001571) × IOC (%); ³⁵Y = 0,06 (EP = 0,01) + 0,02473 (EP = 0,001837) × IOC (%); ³⁶Y = 0,01 (EP = 0,001) – 0,00083 (EP = 0,000230) × IOC (%); ³⁷Y = 0,06 (EP = 0,003) – 0,00404 (EP = 0,000682) × IOC (%); ³⁸Y = 0,15 (EP = 0,01) – 0,00821 (EP = 0,001117) × IOC (%); ³⁹Y = 0,009 (EP = 0,002) + 0,002414 (EP = 0,000445) × IOC (%); ⁴⁰Y = 0,03 (EP = 0,003) – 0,00177 (EP = 0,000260) × IOC (%); ⁴¹Y = 0,02 (EP = 0,002) + 0,001109 (EP = 0,000270) × IOC (%).

A inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação reduziu linearmente a concentração de ácidos graxos de cadeia curta em 41,42%, ácidos graxos de cadeia média em 27,32%, ácidos graxos saturados em 20,24%, a relação ácidos graxos saturados/insaturados em 39,20%, relação ômega6/ômega3 em 39,45%, índice de aterogenicidade em 48,36%, índice de trombogenicidade em 39,86% no tratamento 6% quando comparado ao tratamento controle (Tabela 12).

Todas as variáveis acima mencionadas vêm de encontro a ideologia de um alimento mais saudável, visto que, por muitas vezes os alimentos de origem animal, como, no caso deste estudo, o leite, foi apontado como um vilão pela quantidade de

ácidos graxos saturados, os quais sempre foram identificados como precursores de doenças cardiovasculares. No entanto, atualmente os produtos de origem animal já não são mais excluídos das dietas devido ao fato do perfil de ácidos graxos que compõem os alimentos derivados de ruminantes estarem sendo modificados ao longo do tempo, através de mudanças na dieta dos animais, sendo o óleo de canola uma excelente alternativa pelos prósperos resultados encontrados.

A relação ômega6/ômega3 da dieta humana vem a muitos anos tentando achar o equilíbrio que havia nos primórdios, antes da era industrial, onde o consumo de alimentos naturais eram a única opção ou a mais abundante. A busca por uma dieta mais saudável vem sendo tema de diversas pesquisas na saúde humana, tendo em vista os numerosos casos de doenças não transmissíveis que desencadeiam a morte de milhares de pessoas no mundo inteiro. O leite de vacas alimentadas com óleo de canola torna-se uma ferramenta útil nesta busca incessante sobre uma dieta mais saudável, repercutindo na prevenção contra determinadas doenças. Quanto mais baixa a relação ômega6/ômega3 melhor, mais saudável é o alimento, sendo a relação no tratamento 6% de 5,9:1 quando comparada ao tratamento controle 9,8:1. Segundo Freire (2011) a Organização Mundial da Saúde (OMS) juntamente à Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) recomendam a razão de (5:1) podendo chegar até (10:1) os valores sugeridos para uma alimentação equilibrada entre ômega 6 e 3.

Os índices de aterogenicidade (capacidade de induzir a formação aterosclerose) e trombogenicidade (capacidade de promover infartos e derrames) indicam que quanto menores os valores destes índices, maior é quantidade de ácidos graxos antiaterogênicos presentes em determinado óleo ou gordura, apresentando maior potencial de prevenção contra o desenvolvimento de doenças coronarianas. No entanto, não há valores recomendados para estes índices em produtos lácteos, apenas considera-se que quanto menor for o valor destes índices, mais favorável é o perfil de AG à saúde humana (BENTES et al., 2009).

O índice de aterogenicidade reduziu linearmente de 2,44 g/100g de AG no tratamento controle para 1,26 g/100g de AG no tratamento 6% de óleo. O índice de trombogenicidade também reduziu linearmente de 2,91 g/100g de AG no tratamento controle para 1,75 g/100g de AG com a inclusão de 6% de óleo de canola. Estes resultados são baseados no perfil da gordura do leite, que apresenta AG de maior importância para a saúde humana com a inclusão do óleo de canola, quando comparado a dieta controle.

Em estudo realizado por Barros et al. (2013) sobre manteigas produzidas com leite de vacas suplementadas com 0; 1,5; 3,0 e 4,5% de óleo de girassol apresentaram redução linear ($P < 0,0001$) dos índices de aterogenicidade e trombogenicidade conforme a inclusão do óleo de girassol, sendo respectivamente IA: 4,02; 2,70; 1,80; 1,41 e IT: 4,68; 3,43; 2,50 e 2,05. Conforme a inclusão de óleo há redução dos índices, melhorando a qualidade da manteiga, tornando-a mais saudável. Estes resultados corroboram com os dados deste trabalho, onde a inclusão do óleo de canola reduziu linearmente estes índices. No entanto, devido ao maior nível e também pela diferença na composição do óleo de canola e girassol, o tratamento 6% de óleo de canola apresentou resultados melhores, sendo IA de 1,26 e IT de 1,75.

Caroprese et al. (2010) também realizou um trabalho utilizando semente de linhaça (1,2kg/dia) e óleo de peixe encapsulado (200g/dia) para vacas em lactação para avaliar o perfil de ácidos graxos do leite, bem como os índices de aterogenicidade e trombogenicidade. O IA no tratamento controle foi de 2,119, óleo de peixe 2,093 e semente de linhaça 1,859. Na mesma ordem de tratamento o IT foi: 2,50; 2,41 e 2,31. A semente de linhaça apresentou os menores índices neste trabalho.

O tratamento 6% de inclusão de óleo de canola na dieta das vacas aumentou linearmente a concentração dos ácidos graxos de cadeia longa em 45,91%, ácidos graxos insaturados em 34,08%, ácidos graxos monoinsaturados em 40,37%, ácidos graxos poliinsaturados em 17,88%, a concentração do ômega 3 no leite em 115%, ácido rumênico (CLA) em 16,50%, ácido oleico em 44,87% e o índice h/H em 94,44% em comparação ao tratamento controle (Tabela 12).

O ácido graxo ômega 3 auxilia na prevenção de problemas cardiovasculares pelo fato de produzir eicosanoides com baixo poder inflamatório que controlam o estreitamento da luz arterial por deposição de gordura na parede dos vasos sanguíneos. Essa lesão na parede da artéria estimula a formação de coágulos, podendo levar a formação de trombos com agregação de plaquetas estimuladas pelos eicosanoides inflamatórios e vasoconstrição (MARTIN et al., 2006).

O índice h/H é um índice que considera a atividade funcional dos ácidos graxos no metabolismo das lipoproteínas de transporte do colesterol plasmático, cujo tipo e quantidade está relacionado com o maior ou menor risco de incidência de doenças cardiovasculares (SANTOS-SILVA et al., 2002). O índice h/H é contrário aos índices de aterogenicidade e trombogenicidade, pois quanto maior o h/H, melhor nutricionalmente é o óleo ou gordura, e menor é o risco de incidência de doenças

cardiovasculares. O óleo de canola aumentou linearmente o índice h/H de 0,54 g/100g de AG do tratamento controle para 1,05 g/100g de AG no leite com inclusão de 6% de óleo de canola na dieta de vacas em lactação (tabela 12). Os resultados deste trabalho corroboram com os de Barros et al. (2013) onde o mesmo relata um aumento linear do índice h/H na manteiga conforme a inclusão de óleo de girassol na dieta das vacas. Para os tratamentos 0; 1,5; 3 e 4,5%, os resultados foram: 0,30; 0,45; 0,62 e 0,70 respectivamente.

Tabela 12 - Efeito da inclusão de óleo de canola (IOC) na dieta de vacas em lactação sobre a qualidade nutricional da fração lipídica do leite (g/100g AG).

Variáveis	Inclusão de óleo de canola			Média	EPM*	P**	
	Controle	3%	6%			L	Q
AG Cadeia Curta ¹	11,25	7,93	6,59	8,54	0,36	<0,0001	0,004
AG Cadeia Média ²	49,66	40,69	36,09	41,36	0,95	<0,0001	0,0019
AG Cadeia Longa ³	38,44	50,63	56,09	49,57	1,29	<0,0001	0,003
AG Saturados ⁴	64,84	55,97	51,71	56,93	1,04	<0,0001	0,0221
AG Insaturados ⁵	35,68	43,91	47,84	43,12	1,13	<0,0001	0,0388
Relação Sat/Insat ⁶	1,76	1,26	1,07	1,33	0,01	<0,0001	0,0723
AG Monoinsaturados ⁷	32,32	41,40	45,37	39,24	1,08	<0,0001	0,0035
AG Poliinsaturados ⁸	2,18	2,54	2,57	2,50	0,07	0,0165	0,1666
Rumênico ⁹	0,521	0,520	0,607	0,530	0,035	0,032	0,126
Ácido oleico ¹⁰	21,97	28,57	31,83	27,62	0,66	<0,0001	0,0004
Ômega 3 ¹¹	0,20	0,38	0,43	0,33	0,02	<0,0001	0,0017
Ômega 6 ¹²	1,80	2,33	2,39	2,18	0,07	<0,0001	0,0360
Relação ω6/ω3 ¹³	9,86	6,43	5,97	7,46	0,44	<0,0001	0,0399
Aterogenicidade ¹⁴	2,44	1,55	1,26	1,72	0,08	<0,0001	0,0004
Trombogenicidade ¹⁵	2,91	2,05	1,75	2,20	0,08	<0,0001	0,0022
h/H ¹⁶	0,54	0,83	1,05	0,82	0,03	<0,0001	0,0747

*EPM= erro padrão da média; P** L= Probabilidade para efeito linear, Q=Probabilidade para efeito quadrático. AG Cadeia Curta=C4:0-C12:0; AG Cadeia Média=C12:1-C17:1; AG Cadeia Longa=C18:0-C24:0; Ômega3=(C18:3n3+C20:3n3+C20:5+C22:6); Ômega 6= (C18:2cis9cis12+C18:2cis9trans11+ C18:2+C18:3n6+C20:2+C20:3n6+C22:2); Relação ômega6/ômega3, h/H= hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos.

Equações: ¹Y= 10,90 (EP = 0,47) – 0,7778 (EP = 0,07139) × IOC (%); ²Y= 48,66 (EP = 0,9664) – 2,2023 (EP = 0,1437) × IOC (%); ³Y = 40,24 (EP = 1,49) + 2,8067 (EP = 0,2342) × IOC (%); ⁴Y = 63,80 (EP = 1,1512) - 2,1377 (EP = 0,1872) × IOC (%); ⁵Y= 37,16 (EP = 1,2895) + 1,8996 (EP = 0,2037) × IOC (%); ⁶Y= 1,71 (EP = 0,09646) – 0,1107 (EP = 0,01708) × IOC (%); ⁷Y= 32,96 (EP = 1,1629) + 2,2449 (EP = 0,1830) × IOC (%); ⁸Y= 2,29 (EP = 0,1864) + 0,05343 (EP = 0,02317) × IOC (%); ⁹Y = 0,49 (EP = 0,06) + 0,01709 (EP = 0,005881) × IOC (%); ¹⁰Y = 22,59 (EP = 0,85) + 1,6312 (EP = 0,1001) × IOC (%); ¹¹Y= 0,22 (EP = 0,02477) + 0,03810 (EP = 0,004697) × IOC (%); ¹²Y= 1,87 (EP = 0,2165) + 0,09855 (EP = 0,02226) × IOC (%); ¹³Y= 9,32 (EP = 0,9235) – 0,6664 (EP = 0,1418) × IOC (%); ¹⁴Y= 2,33 (EP = 0,09627) – 0,1942 (EP = 0,01783) × IOC (%); ¹⁵Y= 2,79 (EP = 0,1062) – 0,1883 (EP = 0,01919) × IOC (%); ¹⁶Y= 0,55 (EP = 0,03891) + 0,08419 (EP = 0,003637) × IOC (%).

3.4 Conclusão

A inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação reduz linearmente a produção de leite e a gordura do leite, porém aumenta linearmente a concentração de ácidos graxos benéficos para a saúde humana como ácidos graxos mono e poliinsaturados, CLA, ômega 3 e ácido oleico no leite, melhorando a qualidade do leite produzido, sendo mais saudável para o consumo humano, podendo ser considerado funcional.

Referências Bibliográficas

- BARROS, P. A. V., et al. Qualidade nutricional e estabilidade oxidativa de manteigas produzidas do leite de vacas alimentadas com cana-de-açúcar suplementada com óleo de girassol. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.65, p.1545-1553, 2013.
- BAUMAN, D. E.; HARVATINE, K. J.; LOCK, A. L. Nutrigenomics, Rumen-Derived Bioactive Fatty Acids, and the Regulation of Milk Fat Synthesis. **Annual Review of Nutrition**. v.31, p.299–319, 2011.
- BENTES, A. S. et al. Caracterização física e química e perfil lipídico de três espécies de peixes amazônicos. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v.03, p.97-108, 2009.
- CAROPRESE, M. et al. Flaxseed supplementation improves fatty acid profile of cow milk. **Journal of Dairy Science**. Champaign. v. 93, p.2580–2588, 2010.
- CHRISTIE, W.W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. **Journal of Lipid Research**. v. 23, p. 1072, 1982.
- EIFERT, C. E. et al. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e monensina no início da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n.1, p. 219-228, 2006.
- FREIRE, S. C. **Ingestão dos ômega 3 e 6 deve ser equilibrada**. Disponível em: <<http://www.minhavida.com.br/alimentacao/materias/13991-ingestao-dos-omegas-3-e-6-deve-ser-equilibrada>>. Acesso em: 07 de dezembro de 2014.
- HARA, A.; RADIN, N. S. Lipid extraciton of tissues with low-toxicity solvent. **Analitical Biochemistry**. v.90, p.420-426, 1978.
- .

LEITE, L. C. **Perfil de ácidos graxos do leite e metabolismo de lipídios no rúmen de vacas recebendo dietas com alto ou baixo teor de concentrado e óleo de soja ou de peixe. Piracicaba, SP.** 2006. 97f. Tese (Doutorado em Agronomia – Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

LIN, L. et al. Evidence of health benefits of canola oil. **Nutrition Reviews**. v.7, p.370–385, 2013.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano mais pecuária.** Disponível em: < http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/Publicacao_v2.pdf>. Acesso em: 14 de novembro de 2014.

MARTIN, C. A. et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**. Campinas. v.19, p.761-770, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th Rev. Ed. Natl. Acad. Science., Washington, dc. 2001.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de lipídios. In: BERCHIELLI, T. T.; VAZ PIREZ, A. OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep. 2006, cap.10, p.287-310.

RODRIGUES-RUIZ, J. R. et al. Rapid simultaneous lipid extraction and transesterification for fatty acid analyses, **Biotechnology Techniques**. v.12(9), p.689-691, 1998.

SALES-CAMPOS, H., et al. An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**. v.13, p.201-10, 2013.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J. B.; SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. **Livestock Production Science**, Roma, v. 77,n. 2/3, p. 187-194, 2002.

SANTOS-ZAGO, L. F.; BOTELHO, A. P.; OLIVEIRA, A. C. Os efeitos do ácido linolêico conjugado no metabolismo animal: avanço das pesquisas e perspectivas para o futuro. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.21, n.2, p.195-221, 2008.

SKLAN, D. et al. Effect of dietary calcium soaps on milk yield, bodyweight, reproductive hormones and fertility in first parity and older cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 6, p. 1652-1660, 1994.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS. **Statistical analysis user's guide**. Version 8.2. Cary, 2001. 1686 p.

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