

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS, ESTABILIDADE
OXIDATIVA E ASPECTOS SENSORIAIS DO LEITE
DE VACAS SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE
LINHAÇA NA DIETA E SELENITO DE SÓDIO
INJETÁVEL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Leila Cardozo

Santa Maria, RS, Brasil

2011

**PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS, ESTABILIDADE OXIDATIVA
E ASPECTOS SENSORIAIS DO LEITE DE VACAS
SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE LINHAÇA NA DIETA E
SELENITO DE SÓDIO INJETÁVEL**

por

Leila Cardozo

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Clínica Médica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

Orientador: Prof. Marcelo da Silva Cecim

Santa Maria, RS, Brasil

2011

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária
Departamento de Clínica de Grandes Animais**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
Aprova a Dissertação de Mestrado

**PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS, ESTABILIDADE OXIDATIVA E
ASPECTOS SENSORIAIS DO LEITE DE VACAS SUPLEMENTADAS
COM ÓLEO DE LINHAÇA NA DIETA E SELENITO DE SÓDIO
INJETÁVEL**

Elaborada por
Leila Cardozo

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

Comissão Examinadora

Marcelo da Silva Cecim, PhD, UFSM
(Presidente/orientador)

Neila Sílvia Pereira dos Santos Richards, Dra, UFSM

Márcio Nunes Corrêa, Dr, UFPEL

Santa Maria, 17 de janeiro de 2011.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento especial aos meus “*anjos da guarda*”. Pela proteção e pelo amor por mim.

À minha patrocinadora oficial: *mãe*. Da tua maneira, tens sido a pessoa que mais me incentiva a progredir, e muito do que faço e fiz, foi baseado nesse teu apoio.

Ao meu *pai* querido. Por ter sido MEU. E por termos tido uma relação tão especial, que somou muito a ambos. Eterna e dolorosa saudade.

Ao “*mô bem*”. Obrigada pela compreensão e paciência.

Ao professor *Marcelo Cecim*, por acreditar e apostar em mim. Essa oportunidade fez grande diferença na minha vida.

À minha amiga do coração *Érika Fonseca* e ao *Eduardo Flôres*, por terem semeado em mim a vontade de fazer mestrado.

À empresa *CISBRA®* pelo fornecimento do óleo de linhaça.

Aos *proprietários da Fazenda Miramont*, por permitirem a realização do experimento, e por disponibilizarem a sede para minha hospedagem. Aos *funcionários*, pela convivência amistosa.

Aos *animais* participantes do experimento, que fizeram com que me lembrasse do motivo de eu ser Médica Veterinária.

À professora *Neila Richards*, acima de todos os ensinamentos, ressalto o do desprendimento. Obrigada por toda a generosidade, atenção e ajuda.

À *Táís Unfer*. Obrigada por tudo. Sem ti meu sofrimento para a realização deste trabalho teria sido infinitamente maior.

Aos demais que auxiliaram nas coletas e processamento das amostras: *Andreia Quatrin, Daniel Moreira, Émerson Soares, Miguel Roehrs, Thirssa Grando, Patrícia, Rafael Schuster, Gitane Fuke e Rudolf*. Quero destacar o agradecimento ao Émerson, pela responsabilidade e comprometimento.

Aos professores *José Laerte e Tatiana Emanuelli*, por terem disponibilizado o NIDAL-UFSM para a realização das análises.

Agradeço ao *SARLE/UPF*, através do professor *Carlos Bondan*, pela colaboração.

Ao professor *Paulo Nascimento* e ao *Luís Ferraz* pela realização das análises de selênio.

À *Andreane Filappi (Drica)*, por me “salvar” em momentos cruciais.

Vivi e Cacá. Amo vocês sempre e para sempre.

À CAPES e ao PPGMV-UFSM pela bolsa e auxílio financeiro ao projeto.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS, ESTABILIDADE OXIDATIVA E ASPECTOS SENSORIAIS DO LEITE DE VACAS SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE LINHAÇA NA DIETA E SELENITO DE SÓDIO INJETÁVEL

AUTORA: LEILA CARDOZO
ORIENTADOR: MARCELO DA SILVA CECIM
Santa Maria, 17 de janeiro de 2011

O presente trabalho descreve as avaliações feitas no leite de vacas leiteiras submetidas a suplementação com óleo de linhaça na dieta, com ou sem injeção de selenito de sódio, quanto ao perfil de ácidos graxos, estabilidade oxidativa e em relação às propriedades organolépticas do leite. O *capítulo 1* descreve o experimento em que catorze vacas foram distribuídas em três tratamentos: Grupo 1, que recebeu diariamente 400 mL de óleo de linhaça (LIN); Grupo 2, 400 mL de óleo de linhaça + 0,2 mg / Kg de selenito de sódio IM (LINSe) e Grupo 3 controles não tratados (C). O óleo foi fornecido diariamente após 15 dias da aplicação única de selenito de sódio, e o experimento teve duração de quatro semanas. Foram feitas análises do perfil de ácidos graxos e de reações ao ácido tiobarbitúrico, que mede a estabilidade oxidativa do produto. Os animais suplementados com o óleo de linhaça produziram leite com altos níveis de ácido linoleico conjugado e de ômega 3, contudo, mais suscetível à oxidação. A aplicação injetável de selenito de sódio mostrou-se eficaz ao impedir a oxidação prematura do leite. O *capítulo 2* descreve o experimento onde se verificou a aceitação e a ordem crescente de preferência pelos avaliadores, de amostras de leite, através de análises de cor, odor e sabor. Catorze vacas foram distribuídas em três tratamentos: Grupo 1, que recebeu diariamente 400 mL de óleo de linhaça (LIN), Grupo 2, 400 mL de óleo de linhaça + 0,2 mg / Kg de selenito de sódio IM (LINSe) e Grupo 3 controles não tratados (C). O óleo foi fornecido diariamente após 15 dias da aplicação única de selenito de sódio, e o experimento teve duração de dez semanas. O resultado deste estudo foi de que os avaliadores não foram capazes de identificar diferenças de cor, odor e sabor entre as amostras de leite dos grupos tratados e do controle, em relação a um padrão conhecido. Assim, concluiu-se que a inclusão do óleo de linhaça na dieta de vacas leiteiras resulta em aumento do CLA, ômega 3 e consequentemente da oxidação do leite, necessitando assim o uso de substâncias antioxidantes

ou promotores antioxidantes, como o selenito de sódio injetável para retardar a oxidação. Entretanto, a inclusão de 400 mL diários de óleo de linhaça na dieta de vacas leiteiras não é capaz de provocar alterações sensoriais no leite.

Palavras-chave: antioxidante, ácido linoleico conjugado, glutathione peroxidase, TBARS, aceitabilidade, ácidos graxos poli-insaturados, selênio.

ABSTRACT

Master's Dissertation
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

FATTY ACID PROFILE, OXIDATIVE STABILITY AND SENSORY ASPECTS OF MILK FROM COWS FED WITH LINSEED OIL IN THE DIET AND SODIUM SELENITE INJECTION

AUTHOR: LEILA CARDOZO
ADVISER: MARCELO DA SILVA CECIM
Santa Maria, January, 17th, 2011.

The objective of the present work was to evaluate the effect of dietary linseed oil with or without injection of sodium selenite upon fatty acid profile and oxidative stability of milk from dairy cows as well as the acceptance of the milk and the increasing order of preference by the evaluators. Chapter 1 describes the experiment where fourteen cows were allocated into four treatments: Group 1 which received daily 400 mL of linseed oil (LIN); Group 2, 400 mL of linseed oil + 0.2 mg/BW sodium selenite IM (LINSe); Group 3, untreated controls (C). The oil was supplied daily after 15 days of de single application of sodium selenite. Treatments lasted 4 weeks. Linseed oil supplemented animals produced milk with higher levels of conjugated linoleic acid and omega 3 but also more susceptible to oxidation. The application of sodium selenite was effective to prevent premature oxidation of milk. Chapter 2 describes the acceptance and increasing order of preference by the evaluators. The evaluators were not able to identify differences in color, odor and flavor among samples of milk from treated and control groups in relation to a known standard. The inclusion of linseed oil on the cows diet promotes and increase in CLA and omega 3 in milk, which in turn becomes more susceptible to oxidation, requiring the use of antioxidants. Even though causing biochemical alterations, the addition of 400 mL daily of linseed oil in the diet of dairy cows is not capable of causing sensory changes in milk.

Key words: antioxidant, conjugated linolenic acid, glutathione peroxidase, acceptability, polyunsaturated fatty acids, selenium.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- FIGURA 1 (Fig.1) - Análises de reações ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) 0, 24 e 96 horas após a colheita do leite de vacas que receberam óleo de linhaça (LIN); óleo de linhaça + selênio injetável (LINSe) e grupo controle (C)..... 25
- FIGURA 2 (Fig.2) - Atividade da enzima Glutathione Peroxidase do leite de vacas que receberam óleo de linhaça (LIN); óleo de linhaça + selênio injetável (LINSe) e grupo controle (C)..... 26

CAPÍTULO 2

- FIGURA 1 (Fig.1) - Ficha de avaliação fornecida aos provadores..... 41

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

TABELA 1 - Composição química dos alimentos fornecidos durante o período experimental.....	23
TABELA 2 - Perfil de ácidos graxos do leite de vacas que receberam óleo de linhaça (LIN); óleo de linhaça + selênio injetável (LINSe) e grupo controle (C).....	24

CAPÍTULO 2

TABELA 1 - Composição química dos alimentos fornecidos durante o período experimental.....	38
TABELA 2 - Médias do teste de comparação múltipla para os atributos cor, odor e sabor das amostras de leite.....	39
TABELA 3 - Médias do teste de aceitação para os atributos cor, odor e sabor das amostras de leite.....	40

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. CAPÍTULO 1. ESTABILIDADE OXIDATIVA E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE DE VACAS SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE LINHAÇA NA DIETA ASSOCIADO OU NÃO AO SELENITO DE SÓDIO INJETÁVEL.....	14
Resumo.....	15
Abstract.....	15
Introdução.....	15
Material e Métodos.....	17
Resultados e discussão.....	18
Conclusões.....	20
Referências Bibliográficas.....	20
3. CAPÍTULO 2. CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DO LEITE DE VACAS SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE LINHAÇA NA DIETA ASSOCIADO OU NÃO AO SELENITO DE SÓDIO INJETÁVEL.....	27
Resumo.....	28
Abstract.....	28
Introdução.....	29
Material e Métodos.....	30
Resultados e Discussão.....	33
Conclusão.....	35
Referências.....	35
4. DISCUSSÃO GERAL.....	42

5. CONCLUSÕES.....	45
6. REFERÊNCIAS.....	46

1. INTRODUÇÃO

O valor nutracêutico do leite foi reconhecido há várias décadas, e existe uma crescente demanda por alimentos saudáveis, com baixos teores de gordura saturada e com as características organolépticas originais preservadas, mesmo com o aumento do tempo de prateleira. Em uma alimentação humana saudável, preconiza-se a ingestão de mais ácidos graxos poli-insaturados (AGP), ácido linolênico (ômega 3) e ácido linoleico conjugado (CLA), já que a ingestão de alimentos enriquecidos com AGP (ômega 6 e ômega 3) está associada com redução do risco de doenças cardiovasculares (LORGERIL & SALEN, 2002). O CLA tem sido relacionado com efeitos anticarcinogênicos, antiaterogênicos, aumento da resposta imune, redução da gordura acumulada no corpo e ainda, efeito antidiabético (TANAKA, 2005).

GRUMMER & CARROL (1991) mostraram que o aumento de ácido graxo ômega 3 no leite poderia reduzir a incidência de arteriosclerose, estando de acordo com as afirmações de PETIT (2002). A produção de leite enriquecido com moléculas nutracêuticas, como os ácidos graxos ômeegas e ácido linoléico conjugado (SILVA, 2006) é possível com o fornecimento de gordura para vacas em lactação, porém o NRC (2001) relata que a adição de lipídios pode limitar o consumo dos animais, por efeitos sobre a fermentação ruminal, efeitos de ordem metabólica, ou simples queda da palatabilidade do alimento.

Diversos pesquisadores afirmam que teores maiores que 7% de lipídios na dieta interferem negativamente na fermentação ruminal (JENKINS, 1993), afetando principalmente a digestão da fibra. De acordo com BYERS & SCHELLING (1993), os mecanismos que influenciam na baixa digestão da fibra são: recobrimento físico da fibra pela gordura, efeito tóxico para alguns microrganismos, efeitos de superfície ativa na membrana de microrganismos e redução da disponibilidade de cálcio através da formação de sabões. Os microrganismos do rúmen defendem-se contra as gorduras insaturadas que lhes são tóxicas, através da bio-hidrogenação (JENKINS, 1993). Gorduras ricas em ômega 3 ou ácido linolênico (*cis*9, *cis*12, *cis*15-C18:3), quando adicionadas a dieta, promovem aumento do CLA, já que o ômega 3 é precursor da síntese deste ácido graxo durante o processo de bio-hidrogenação ruminal (HARFOOT & HAZLEWOOD, 1997). Se por um lado, evitar a bio-hidrogenação pode aumentar a concentração de ômega 3 nos produtos derivados (leite e manteiga), por outro lado, preservar a bio-hidrogenação incompleta auxilia a incorporação de CLA nos mesmos produtos.

A suplementação na dieta dos ruminantes, com óleos de plantas ou sementes com alto teor de gordura, resulta em aumentos substanciais do teor de CLA na gordura do leite (TANAKA, 2005). Uma semente com estas características é a linhaça, que apresenta 32% de gordura, com 60% dos ácidos graxos considerados poli-insaturados, a maioria ômega 3, podendo assim aumentar a concentração de CLA no leite dos animais durante a bio-hidrogenação do mesmo até o ácido graxo *trans11*-C18:1 (WARD et al., 2002). Contudo, o leite com maiores concentrações de ácido linoléico e CLA é mais suscetível à oxidação (SIDHU et al., 1975), pois os ácidos graxos poli-insaturados possuem maior número de ligações duplas nas suas cadeias de carbono, tornando-os mais instáveis.

Sabe-se que os lipídios do leite são protegidos contra a oxidação, por antioxidantes naturais enzimáticos e não enzimáticos (LINDMARK-MANSSON & AKESSON, 2000). Entre as enzimas antioxidantes destaca-se a glutathiona peroxidase (GSHPx), uma enzima selênio-dependente, que atua metabolizando os hidroperóxidos, e cuja atividade depende da bio-disponibilidade do selênio (SURAI, 2006). Durante a decomposição dos peróxidos de hidrogênio formam-se os produtos secundários da oxidação, dos quais vários são voláteis e responsáveis pela formação de odores e/ou gostos indesejáveis no produto (LINDMARK-MANSSON & AKESSON, 2000). Vários estudos têm caracterizado sabor oxidado espontâneo (SOF) e amplos esforços estão sendo feitos para definir as causas do SOF. O sabor do leite oxidado reduz a aceitabilidade de produtos lácteos por parte do consumidor. Sabor oxidado espontâneo se desenvolve sem a adição de oxidantes exógenos ou sem exposição à luz. O SOF é resultado da produção de aldeídos voláteis e outros compostos carbonílicos após a formação de hidroperóxidos (FRANKEL, 1991) a partir da oxidação de ácidos graxos poli-insaturados.

O processo oxidativo é autocatalítico, necessitando apenas de um radical livre para iniciar a produção de hidroperóxidos lipídicos, assim, SOF se intensifica a medida que aumenta o tempo de armazenamento. Portanto, uma forma de evitar a oxidação do leite é o uso de antioxidantes. Com relação à possibilidade de desenvolvimento de rancificação nos alimentos, sempre será necessária à realização de análises sensoriais dos produtos, pois a validade de qualquer análise físico-química dependerá em grande parte da correlação entre estes aspectos (NAWAR, 1983). A avaliação sensorial é baseada na avaliação subjetiva das observações relacionadas entre aparência, odor, textura e sabor. Atualmente com o desenvolvimento da avaliação sensorial é possível analisar de forma científica e objetiva as características subjetivas que influem a aceitabilidade do alimento pelo consumidor (OLIVEIRA, 2009).

2. CAPÍTULO 1

Estabilidade oxidativa e perfil de ácidos graxos do leite de vacas suplementadas com óleo de linhaça na dieta associado ou não ao selenito de sódio injetável

Leila Cardozo¹Taís Cristina Unfer²Émerson Soares¹ Daniel Kanheski Moreira¹ Rafael Schuster¹ Andreia Quatrin² Gitane Fuke² Neila S.P.S. Richards³ Marcelo da Silva Cecim^{1*}

(Artigo a ser submetido ao periódico *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*)

¹Laboratório de Endocrinologia e Metabologia Animal, Departamento de Clínica de Grandes Animais, UFSM, Hospital Veterinário, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. Telefone: (55) 3220 8815. E-mail: mcecim@smail.ufsm.br *Autor para correspondência

²Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL), UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

³Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do óleo de linhaça na dieta, com ou sem injeção de selenito de sódio no perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite de vacas leiteiras. Catorze vacas foram distribuídas em três tratamentos: Grupo 1, que recebeu diariamente 400 mL de óleo de linhaça (LIN), Grupo 2, 400 mL de óleo de linhaça + 0,2 mg / Kg de selenito de sódio IM (LINSe) e Grupo 3 controles não tratados (C). O óleo foi fornecido diariamente após 15 dias da aplicação única de selenito de sódio, e o experimento teve duração de quatro semanas. Os animais suplementados com linhaça produziram leite com altos níveis de ácido linoleico conjugado e de ômega 3, mas também mais suscetível à oxidação. A aplicação injetável de selenito de sódio mostrou-se eficaz ao impedir a oxidação prematura do leite. A inclusão de óleo de linhaça na dieta de vacas leiteiras resulta em aumento do CLA, ômega 3 e da oxidação do leite, necessitando assim o uso de substâncias antioxidantes.

Palavras-chave: antioxidante, glutathiona peroxidase, ácido linoleico conjugado, TBARS.

ABSTRACT

The objective of the present work was to evaluate the effect of dietary linseed oil with or without injection of sodium selenite upon fatty acid profile and oxidative stability of milk from dairy cows. Fourteen cows were allocated into four treatments: Group 1 which received daily 400 mL of linseed oil (LIN); Group 2, 400 mL of linseed oil + 0.2 mg/BW sodium selenite IM (LINSe); Group 3, untreated controls (C). The oil was supplied daily after 15 days of de single application of sodium selenite. Treatments lasted 4 weeks. Linseed oil supplemented animals produced milk with higher levels of conjugated linoleic acid and omega 3 but also more susceptible to oxidation. The application of sodium selenite was effective to prevent premature oxidation of milk. The inclusion of linseed oil on the cows diet promotes and increase in CLA and omega 3 in milk, which in turn becomes more susceptible to oxidation, requiring the use of antioxidants.

Key words: antioxidant, glutathione peroxidase, conjugated linoleic acid, TBARS.

INTRODUÇÃO

O enriquecimento do leite bovino com moléculas nutracêuticas, como os ácidos graxos ômega e o ácido linoleico conjugado (CLA), é uma tendência atual e pode ser obtido com o fornecimento de gordura na dieta dos animais em lactação. Gorduras ricas em ômega 3 ou ácido linolênico (*cis*9, *cis*12, *cis*15-C18:3), quando adicionadas a dieta, promovem aumento

do CLA, já que o ômega 3 é precursor da síntese deste ácido graxo durante o processo de bio-hidrogenação ruminal (Harfoot e Hazlewood, 1997), que é um ato de defesa dos micro-organismos do rúmem contra as gorduras insaturadas que lhes são tóxicas (Jenkins, 1993).

Alterações nas características da dieta causam várias alterações no metabolismo ruminal. Apesar disso, a inclusão de fontes de óleo na dieta de ruminantes é uma alternativa já utilizada para o atendimento às exigências de energia de animais de alta produção leiteira. O uso de lipídios, tanto de origem animal quanto vegetal, é motivo de contradições, pois o conhecimento ainda é restrito quanto aos níveis e as formas de inclusão (protegidas ou não) e dos seus efeitos no consumo (NRC, 2001). A maioria dos trabalhos confirma que o uso de lipídios exerce pouco ou nenhum efeito sobre as atividades da flora microbiana e as demais características do ambiente ruminal, desde que não ultrapasse o valor de 7% da matéria seca total da dieta.

A linhaça é uma oleaginosa que apresenta na semente 32% de gordura, com 60% dos ácidos graxos considerados poli-insaturados, rica em ômega 3, podendo assim aumentar a concentração de CLA no leite dos animais durante a bio-hidrogenação do mesmo até o ácido graxo *trans* 11 C18:1, quando usada na dieta (Ward et al., 2002).

A modificação no perfil de ácidos graxos do leite pode alterar várias propriedades físicas e químicas da gordura, como firmeza, ponto de fusão, viscosidade, estabilidade oxidativa e “flavor” (sabor e/ou odor).

Os lipídios do leite são protegidos contra a oxidação, por antioxidantes naturais (Lindmark-Mansson e Akesson, 2000). Entre as enzimas antioxidantes, a glutathione peroxidase (GSHPx), que é selênio-dependente, age sobre os hidroperóxidos (Surai, 2006). Durante a decomposição destes, ocorre formação dos chamados produtos secundários da oxidação, e vários desses compostos são voláteis e responsáveis pela formação de odores e/ou gostos indesejáveis (Lindmark-Mansson e Akesson, 2000). A atividade da enzima depende da bio-disponibilidade do mineral que, por sua vez, é dependente da fonte utilizada (Surai, 2006).

Para que o selênio seja incorporado especificamente em selenoproteínas funcionais, como a glutathione peroxidase, é necessário que as formas orgânicas e inorgânicas sejam reduzidas a seleneto, e este, por sua vez, metabolizado a selenocisteína (SeCis). Para tal, o seleneto reage com ATP, formando selenofosfato, numa reação catalisada pela selenofosfato sintetase. Junto com um resíduo de serina, o selenofosfato forma uma SeCis, que é inserida pós tradução nas selenoproteínas funcionais através de um códon UGA específico (Sunde e Hoekstra, 1980; Driscoll e Copeland, 2003). As formas inorgânicas são mais rapidamente transformadas em seleneto que as orgânicas.

A suplementação de selênio aos animais torna-se interessante, portanto, como promotor antioxidante. Para fugir da rota metabólica extensa que o selênio suplementado via oral necessita percorrer, Oblitas et al. (2000), testaram em animais deficientes em selênio, uma dose de 5mg/100kg de peso, de selenito de sódio injetável, e mediram o efeito na atividade da enzima glutathione peroxidase sanguínea e no ganho de peso dos animais. Concluiu-se assim que esta dose produz um incremento na atividade da glutathione peroxidase dos 30 aos 90 dias após a aplicação.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da administração de óleo de linhaça na dieta de vacas leiteiras, associado ou não ao selenito de sódio injetável, sobre o perfil de ácidos graxos e a estabilidade oxidativa do leite.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria, sob o número 88/2009, e os estudos foram realizados de acordo com normas éticas.

O experimento foi realizado em um tambo leiteiro localizado na cidade de Novo Cabrais / RS, durante os meses de abril e maio de 2010. Foram utilizadas 14 vacas leiteiras das raças Holandesa e Jersey, de 60 a 240 dias em lactação, com produção média de 16,25 kg de leite por dia, distribuídas em blocos ao acaso, de forma uniforme em relação à raça, ao período e número de lactações, entre os grupos. A ordenha foi realizada duas vezes ao dia (5 e 16h) e medidas gerais de higiene foram adotadas.

Os tratamentos utilizados no experimento foram: dieta com inclusão de 400 mL de óleo de linhaça (LIN); dieta com inclusão de 400 mL de óleo de linhaça + 0,2 mg/Kg de Na₂SeO₃ injetável (LINSe) e controle (C). O selenito de sódio foi aplicado via intramuscular (solução aquosa) no dia 0, o fornecimento de óleo iniciou no dia 15 e as coletas de leite ocorreram no dia 30 do experimento. O período experimental teve duração de 4 semanas. A dose diária de óleo de linhaça foi medida e misturada a 300 g de farelo de trigo, fornecida uma vez ao dia, após a ordenha da tarde, misturada a ração dos animais, para garantir consumo total.

Amostras do concentrado e da silagem foram enviadas para análise laboratorial, no NIDAL-UFSM (Núcleo Integrado de Desenvolvimento de Análises Laboratoriais) e os resultados encontram-se na Tab. 1.

Foram determinados os teores de matéria seca total (MST), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), todos segundo a AOAC (1995). Fibra em detergente

ácido corrigida para cinzas (FDAc) e fibra em detergente neutro corrigida para cinzas (FDNc) conforme Van Soest et al. (1991), com adição de alfa amilase termoestável mas sem uso de sulfito.

No levantamento do perfil de ácidos graxos, as amostras de leite foram colhidas no dia 30 do período experimental, durante a ordenha da manhã, de cada animal proporcionalmente, de modo a compor uma amostra homogênea de cada grupo. Foram utilizados tubos falcon de 50 mL, sem adição de conservantes, e as amostras foram congeladas a -20°C . O perfil de ácidos graxos foi determinado também no NIDAL-UFSM.

A extração dos lipídios das amostras de leite foi feita segundo a metodologia de Blight e Dyer (1959). Para a análise dos ácidos graxos, uma alíquota do extrato lipídico, contendo aproximadamente 100 mg de lipídios, foi seca em evaporador rotatório e transmetilada de acordo com o método de Hartman e Lago (1973).

A identificação dos ácidos graxos foi realizada através da comparação do tempo de retenção dos ácidos graxos das amostras com o de padrões conhecidos (Supelco FAME 37). O teor de cada ácido graxo nas amostras de leite foi calculado de acordo com a área de cada um dos picos obtidos nos cromatogramas, multiplicadas por 100 e dividido pelo total de ácidos graxos da amostra.

Nos produtos secundários da oxidação, análises de reações ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram realizadas imediatamente após a chegada ao laboratório das amostras (aproximadamente 8 horas após a colheita de leite), 24 e 96 horas depois da primeira análise. Foram coletados 100 mL de leite de cada grupo experimental para cada tempo de análise, e a metodologia utilizada foi a mesma descrita por Paschoal et al. (2007).

Para avaliação da atividade da enzima glutathiona peroxidase, utilizou-se metodologia adaptada de Paglia e Valentine (1967).

As análises de perfil de ácidos graxos, de reações ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e da atividade da glutathiona peroxidase foram submetidas à análise de variância, sendo utilizado o teste de Tukey (significância $p < 0,05$) para verificar os efeitos testados. As análises foram realizadas com auxílio do software Graph Pad InStat 3 versão 3.10.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação ao resultado da análise de perfil de ácidos graxos, os ácidos graxos de cadeia longa (C18) apresentados na Tab. 2, estão aumentados no grupo LINSe em relação ao grupo LIN e ao controle, o que não foi observado nos trabalhos de Ramaswamy et al. (2001) e Paschoal et al. (2007).

Porém, os valores aumentados (1,06 e 1,26 g/100g) obtidos neste trabalho em relação à concentração de CLA nos grupos tratados com óleo, vem ao encontro aos observados por Ramaswamy et al. (2001) com vacas alimentadas com forragem conservada e concentrado com alta concentração de óleo vegetal, e por Paschoal et al. (2007) utilizando soja extrusada.

Observa-se que no trabalho utilizando soja extrusada e no de Santos et al. (2001), onde foi utilizado grão de soja triturado, as concentrações de CLA são numericamente inferiores, mostrando assim que a maior concentração deste ácido graxo é obtido utilizando-se o óleo e não os grãos de oleaginosas, mesmo quando estes sofrem processo térmico ou mecânico. Segundo esses autores, o baixo nível de CLA, poderia estar relacionado à baixa disponibilidade dos lipídios à bio-hidrogenação, uma vez que estariam presos a matriz proteica da semente.

O ômega 3 ou ácido linolênico, também aumentou nos animais tratados com óleo de linhaça em relação ao grupo controle (Tab. 2). Paschoal et al. (2007) não observaram diferenças entre os grupos tratados e o controle em relação a concentração deste ácido graxo.

A Tab. 2 demonstra que houve alteração do perfil lipídico do leite, aumentando assim os ácidos graxos poli-insaturados, que são mais suscetíveis a oxidação, o que é confirmado através dos valores de TBARS nos tempos 24 e 96 da análise (Fig. 1), onde o grupo LIN mostrou-se mais oxidado em relação aos grupos LINSe e controle, sendo que o grupo LINSe não apresentou grande aumento da oxidação em relação ao controle, indicando possível efeito do selênio como promotor do efeito antioxidante observado.

Paschoal et al. (2007) observou em animais suplementados com soja extrusada e selênio orgânico oral, o mesmo aumento na oxidação no tempo 96 de análise, além de observar que houve mais oxidação no leite dos animais que receberam dieta lipídica em relação aos que a receberam e foram suplementados com selênio.

Oblitas et al. (2000) cita incremento da atividade sanguínea da glutathione peroxidase, enzima antioxidante dependente de selênio, em animais que receberam dose injetável de selenito de sódio a partir de 30 dias de sua aplicação. O incremento observado no leite do grupo LINSe ($3056,7 \pm 472,27$) não apresenta diferença estatística, porém apresenta diferença numérica em relação ao grupo LIN ($2630,3 \pm 926,01$) e ao controle ($2292,4 \pm 545,30$), como pode ser visto na Fig.2.

Stagsted (2006) não conseguiram detectar qualquer atividade da glutathione peroxidase (GSHPx) no leite bovino, contrariando Hojo (1982), que detectou atividade da enzima em leite cru. Stagsted (2006) ainda cita que a presença e a importância da glutathione peroxidase para a estabilidade oxidativa do leite de vaca não é clara, e, para Phipps et al. (2008), embora

GSHPx é um importante composto de selênio em leite, outros compostos também podem ser antioxidantes, como o selênio livre, por exemplo. Isso justifica os resultados inexpressivos da atividade da enzima encontrados no grupo tratado com selênio apesar da oxidação ter sido retardada neste grupo.

O presente trabalho demonstra que animais que tiveram o perfil de ácidos graxos do leite modificado pela adição de óleo de linhaça na dieta e receberam uma dose injetável de selenito de sódio, não diferiram significativamente dos animais do grupo controle em relação aos valores de TBARS, 24 e 96 horas após a coleta do leite, e os valores de atividade da GSHPx não foram significativos entre os grupos, comprovando portanto, que uma aplicação de selenito de sódio, na dose de 0,2 mg/Kg, favorece a atividade antioxidante no leite após 30 dias, porém essa atividade antioxidante não é ação exclusiva da enzima glutathione peroxidase.

CONCLUSÕES

A adição de 400 mL diários de óleo de linhaça na dieta de vacas leiteiras altera o perfil de ácidos graxos do leite, aumentando os teores de ácidos graxos poli-insaturados, e também acelerando o processo de oxidação do leite. O uso de selenito de sódio injetável na dose de 0,2 mg/Kg foi capaz de estimular a atividade antioxidante, retardando a oxidação do leite com teores aumentados de ácidos graxos poli-insaturados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis. 12th ed. Washington, 1995.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal Biochemistry Physiology v. 37, p. 911-917, 1959.

DOREAU, M.; FERLAY, A. Effect of dietary lipids on the ruminal metabolism in the rumen: a review. Livestock Production Science, v.43, p.97-110, 1995.

DRISCOLL, D.M.; COPELAND, P.R. Mechanism and regulation of selenoprotein synthesis. Annual Review of Nutrition, v.23, p.17-40, 2003.

HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Ed.) The Rumen Microbial Ecosystem. 2.ed. Blackie Academic & Professional: Great Britain, 1997. p.382-419.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. Laboratory Practice, v.22, n.8, p.475-476, 1973.

- HOJO, Y.** Selenium concentration and glutathione peroxidase activity in cow's milk. *Biological Trace Element Research*, v. 4, p. 233-239, 1982.
- JENKINS, T.C.** Lipid metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, v.76, n.12, p.3851-3863, 1993.
- LINDMARK-MANSSON, H.; AKESSON, B.** Antioxidative factors in milk. *British Journal of Nutrition*, v.84, p.103-110, 2000.
- NRC - NUTRIENT REQUIREMENTS OF DAILY CATTLE.** 7.ed. Washington: National Academy of Science, 2001.
- OBLITAS, F.; CONTRERAS, P.A; BÖHMWALD, T.M; et al.** Efecto de la suplementación con selenio sobre la actividad sanguínea de glutathione peroxidase (GSH-Px) y ganancia de peso en bovinos selenio deficientes mantenidos a pastoreo. *Arquivos de Medicina Veterinária*, v.32, n.1, 2000.
- PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N.** Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, v.70, p. 158-169, 1967.
- PASCHOAL, J.J; ZANETTI, M. A; DEL CLARO, G. R; et al.** Perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite de vacas holandesas alimentadas com soja extrusada e selênio orgânico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.42, n.12, p.1793-1799, 2007.
- PHIPPS, R. H.; GRANDISON, A. S.; JONES, A. K; et al.** Selenium supplementation of lactating dairy cows: effects on milk production and total selenium content and speciation in blood, milk and cheese. *Animal*, v.2:11, p. 1610-1618, 2008.
- RAMASWAMY, N.; BAER, R.J.; SCHINGOETHE, D.J.; et al.** Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. *Journal of Dairy Science*, v.84, p.2144-2151, 2001.
- SANTOS, F.L.; SILVA, M.T.C.; LANA, R.P.; et al.** Efeito da suplementação de lipídios na ração sobre a produção de ácido linoléico conjugado (CLA) e a composição da gordura do leite de vacas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, p.1931-1938, 2001.
- STAGSTED, J.** Absence of both glutathione peroxidase activity and glutathione in bovine milk. *International Dairy Journal*, v. 16, p. 662-668, 2006.
- SUNDE, R.A.; HOEKSTRA, W.G.** Incorporation of selenium from selenite and selenocystine into glutathione peroxidase in the isolated perfused rat liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v.93, p.1181-1188, 1980.
- SURAI, P.F.** Selenium in nutrition and health. 1st ed. United Kingdom: Nottingham University Press, 2006. 974p.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, v.74, n.10, p.3583-3598, 1991.

WARD, A.T.; WITTENBERG, K.M.; PRZYBYISKI, R. Bovine milk fatty profile produced by feeding diets containing solin, flax and canola. *Journal of Dairy Science*, v.85, p.1191-1196. 2002.

Tabela 1 – Composição química dos alimentos fornecidos durante o período experimental.

	RAÇÃO	FARELO TRIGO	SILAGEM MILHO
MS	88,35	89,57	28,8
MST	88,35	89,57	94,7
CZ (%MS)	9,24	3,53	4,49
CZ (%AI)	8,17	3,17	1,29
PB (%MS)	24,82	16,06	5,61
PB (%AI)	21,93	14,39	1,61
FDNc (%MS)	25,7	28,76	46,7
FDNc (%AI)	22,7	25,76	13,45
FDAc (%MS)	10,49	11,41	25,53
FDAc (%AI)	9,27	10,22	7,35
EE (%MS)	5,75	2,84	3,92
EE (%AI)	5,08	2,54	1,13

MS (matéria seca); MST (matéria seca total); CZ (cinzas); AI (amostra integral); PB (proteína bruta); FDNc (fibra em detergente neutro corrigida para cinzas); FDAc (fibra em detergente ácido corrigida para cinzas); EE (extrato etéreo).

Tabela 2 – Perfil de ácidos graxos do leite de vacas que receberam óleo de linhaça (LIN); óleo de linhaça + selênio injetável (LINSe) e grupo controle (C).

PERFIL	LIN n= 5	LINSe n= 5	C n= 4	<i>p</i>
C4:0	16,02±0,01 ^a	0,51±0,01 ^b	13,10±0,01 ^c	<0.0001
C6:0	0,56±0,01 ^a	0,58±0,01 ^a	0,77±0,01 ^b	<0.0001
C8:0	0,54±0,01 ^a	0,52±0,01 ^a	0,69±0,01 ^b	<0.0001
C10:0	1,77 ±0,01 ^a	1,73±0,01 ^b	2,11±0,01 ^c	<0.0001
C11:0	0,24±0,01 ^a	0,24±0,01 ^a	0,28±0,01 ^b	<0.0039
C12:0	2,82±0,01 ^a	2,82±0,01 ^a	3,09±0,01 ^b	<0.0001
C14:0	9,47±0,01 ^a	9,85±0,01 ^b	10,78±0,01 ^c	<0.0001
C14:1n	1,06±0,01 ^a	1,10±0,01 ^b	0,98±0,01 ^c	<0.0001
C15:0	0,92±0,01 ^a	1,15±0,01 ^b	1,01±0,01 ^c	<0.0001
C16:0	30,51±0,01 ^a	32,69±0,01 ^b	31,37±0,01 ^c	<0.0001
C16:1	1,71±0,01 ^a	1,97±0,01 ^b	1,34±0,01 ^c	<0.0001
C17:0	0,67±0,01 ^a	0,77±0,01 ^b	0,78±0,01 ^b	<0.0001
C18:0	8,06±0,01 ^a	12,23±0,01 ^b	9,47±0,01 ^c	<0.0001
C18:1n9T	3,52±0,01 ^a	4,36±0,01 ^b	1,94±0,01 ^c	<0.0001
VACÊNICO	0,40±0,01 ^a	1,63±0,01 ^b	0,40±0,01 ^a	<0.0001
C18:1n9C	17,87±0,01 ^a	22,9±0,01 ^b	18,69±0,01 ^c	<0.0001
C18:2n6C	2,31±0,01 ^a	3,17±0,01 ^b	2,05±0,01 ^c	<0.0001
C18:2C9T11 CLA1	1,06±0,01 ^a	1,26±0,01 ^b	0,86±0,01 ^c	<0.0001
C18:3	0,49±0,01 ^a	0,51±0,01 ^a	0,27±0,01 ^b	<0.0001

Resultados expressos em média± SD. Significância $p < 0,05$. Letras diferentes na mesma linha significam diferenças identificadas pelo teste Tukey.

Figura 1 - Análises de reações ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) 0, 24 e 96 horas após a chegada ao laboratório do leite de vacas que receberam óleo de linhaça (LIN); óleo de linhaça + selênio injetável (LINSe) e grupo controle (C).

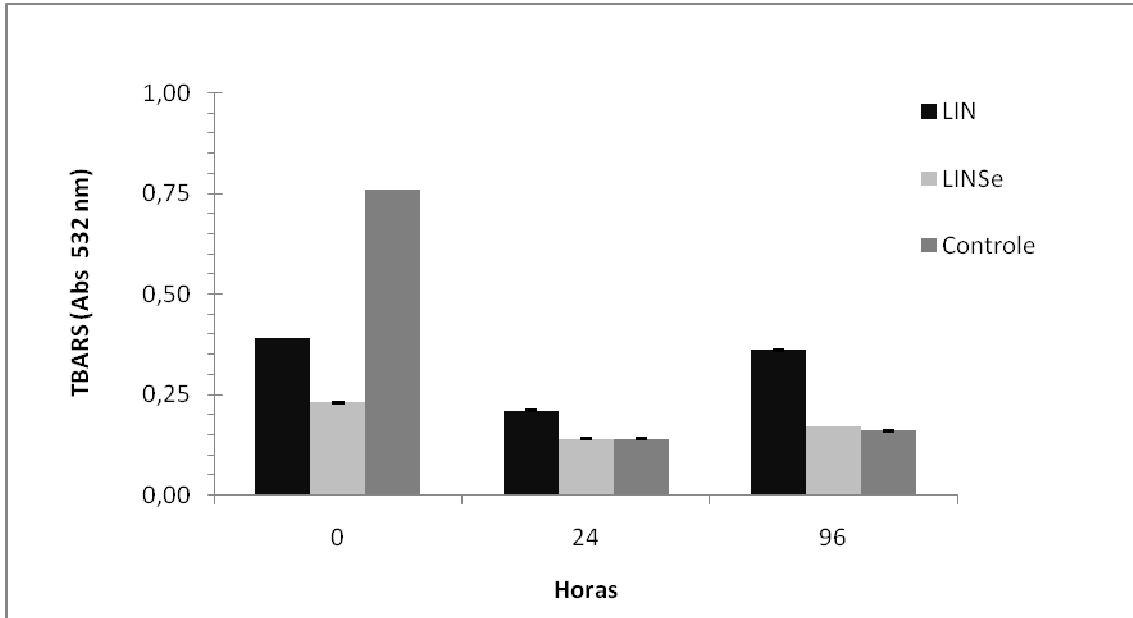
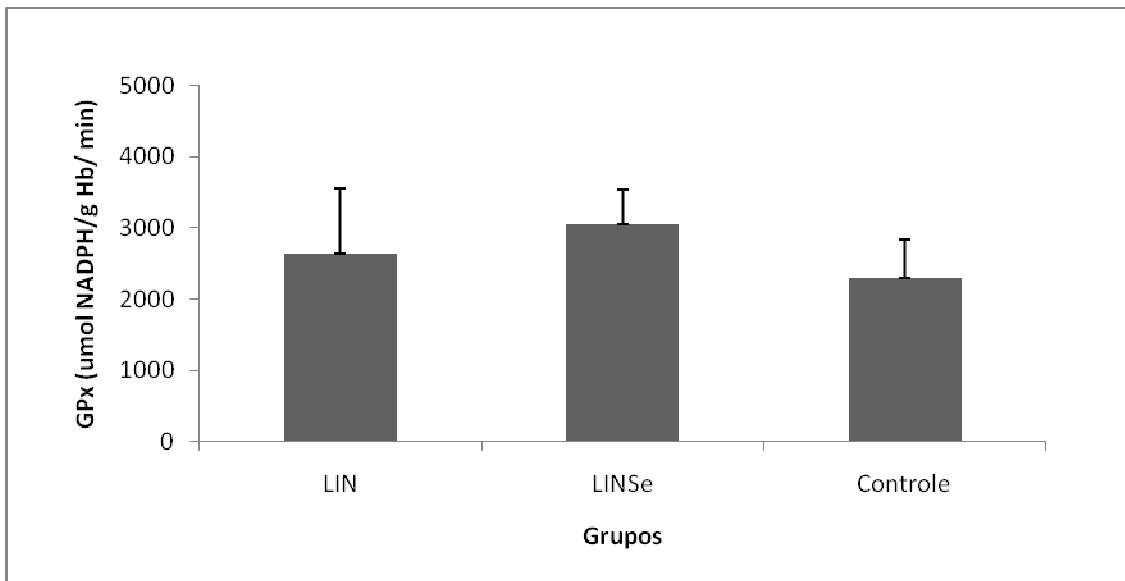


Figura 2 – Atividade da enzima Glutathiona Peroxidase do leite de vacas que receberam óleo de linhaça (LIN); óleo de linhaça + selênio injetável (LINSe) e grupo controle (C).



3. CAPÍTULO 2

Características sensoriais do leite de vacas suplementadas com óleo de linhaça na dieta associado ou não ao selenito de sódio injetável

Leila Cardozo¹ Taís Cristina Unfer² Emerson Soares¹ Daniel Kanheski Moreira¹ Rafael Schuster¹ Neila S.P.S. Richards³ Marcelo da Silva Cecim^{1*}

(Artigo nas normas da revista *Ciência Rural* – 2010)

¹Laboratório de Endocrinologia e Metabologia Animal, Departamento de Clínica de Grandes Animais, UFSM, Hospital Veterinário, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. Telefone: (55) 3220 8815. E-mail: mcecim@smail.ufsm.br *Autor para correspondência

²Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL), UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

³Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi o de verificar a aceitação e a ordem decrescente de preferência pelos avaliadores, de amostras de leite de vacas suplementadas com óleo de linhaça na dieta com ou sem injeção de selenito de sódio. Catorze vacas foram distribuídas em três tratamentos: Grupo 1, que recebeu diariamente 400 mL de óleo de linhaça (LIN), Grupo 2, 400 mL de óleo de linhaça + 0,2 mg / Kg de selenito de sódio IM (LINSe) e Grupo 3 controles não tratados (C). O óleo foi fornecido diariamente após 15 dias da aplicação única de selenito de sódio, e o experimento teve duração de dez semanas. Os avaliadores não foram capazes de identificar diferenças de cor, odor e sabor entre as amostras de leite dos grupos tratados e o controle em relação a um padrão conhecido. A inclusão de 400 mL diários de óleo de linhaça na dieta de vacas leiteiras não é capaz de provocar alterações sensoriais no leite.

Palavras-chave: aceitabilidade, ácidos graxos poli-insaturados, antioxidante, selênio.

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the acceptance and increasing order of preference by the evaluators, the milk samples from cows fed linseed oil diet with or without injection of sodium selenite. Fourteen cows were divided into three groups: Group 1, who received 400 mL daily of linseed oil (LIN), Group 2, 400 mL of linseed oil + 0.2 mg / kg of sodium selenite IM (LINSe) and Group 3 untreated controls (C). The oil was supplied daily after 15 days of a single application of sodium selenite, and the experiment lasted ten weeks. The evaluators were not able to identify differences in color, odor and flavor among samples of milk from treated and control groups in relation to a known standard. The addition of 400 mL daily of linseed oil in the diet of dairy cows is not capable of causing sensory changes in milk.

Key words: acceptability, polyunsaturated fatty acids, antioxidant, selenium.

INTRODUÇÃO

A ingestão de ácidos graxos saturados está ligada ao aumento do risco de doenças cardiovasculares devido ao aumento de colesterol sanguíneo (GRUNDY & DENKE, 1990), enquanto que a dieta com ácidos graxos poli-insaturados, como o ômega-3, conduz a uma redução na taxa de doenças coronarianas (SIMOPOULOS, 2002). Com base nisto, os nutricionistas passaram a alimentar vacas leiteiras com suplementos ricos em ácidos graxos poli-insaturados, atendendo assim, aos requerimentos energéticos dos animais, evitando os efeitos nocivos de altas quantidades de concentrados sobre o ambiente ruminal (DOREAU & CHILLIARD, 1997), e também com o intuito de modificar o perfil de ácidos graxos da gordura do leite.

Sabe-se que gorduras insaturadas, como os óleos, quando fornecidas na dieta de ruminantes, apresentam efeitos sobre o ambiente ruminal, resultando em alterações nas proporções dos ácidos graxos voláteis (AGV) produzidos, com aumento de propionato e redução nas concentrações de acetato, metano e de amônia ruminal (NAGARAJA et al., 1997). Também a redução na digestibilidade da fração fibrosa dos alimentos tem sido observada em algumas situações (JENKINS, 1993), o que pode comprometer seu valor energético, em razão de decréscimo na digestibilidade total, e limitar o consumo de matéria seca, em função da maior retenção da fração fibrosa no rúmen (ALLEN, 2000). Contudo, a maioria dos trabalhos afirma que o uso de lipídios, desde que não ultrapasse o valor de 7% da matéria seca total da dieta, exerce pouco ou nenhum efeito sobre as atividades da flora microbiana e as demais características do ambiente ruminal (JENKINS, 1993).

A linhaça é uma oleaginosa rica em ômega 3 (ácido linolênico), e quando usada na dieta animal pode contribuir para o aumento na concentração de ácido linoléico conjugado (CLA) no leite dos animais durante a bio-hidrogenação ruminal do ácido linolênico até o

ácido graxo *trans*11 C18:1 (WARD et al., 2002). No entanto, a modificação no perfil de ácidos graxos pode alterar propriedades físico-químicas do leite, como ponto de fusão, viscosidade e estabilidade oxidativa.

O processo oxidativo é autocatalítico, e naturalmente os lipídios do leite são protegidos contra a oxidação, por mecanismos que incluem enzimas dependentes da bio-disponibilidade de selênio, como a glutathiona peroxidase (GSHPx) (SURAI, 2006). Para fugir da rota metabólica extensa que o selênio suplementado via oral necessita percorrer, a administração injetável mostra-se uma alternativa interessante (OBLITAS et al., 2000).

As alterações de sabor e/ou odor do leite que podem ser causadas pela oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados aumentados com a inclusão de lipídios na dieta das vacas, tornam necessárias as análises sensoriais do produto, para verificar a aceitabilidade do consumidor.

A avaliação sensorial é baseada na avaliação subjetiva das observações relacionadas a aparência, odor, textura e sabor. Atualmente, é possível analisar de forma científica e objetiva as características subjetivas que influenciam a aceitabilidade do alimento pelo consumidor (OLIVEIRA, 2009). Para PAL et al. (1985), as características sensoriais são importantes principalmente para o desenvolvimento de novos produtos e para o controle da qualidade, e no teste sensorial, é muito importante a padronização, já que muitas vezes o atributo que se pretende avaliar é influenciado por fatores como quantidade e cores diferentes entre as amostras.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi verificar a aceitação e a ordem decrescente de preferência pelos avaliadores, de amostras de leite de vacas suplementadas com óleo de linhaça na dieta e selenito de sódio injetável.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em um tambo leiteiro, de propriedade particular, localizado na cidade de Novo Cabrais / RS, durante os meses de abril, maio e junho do ano de 2010. Foram utilizadas 14 vacas leiteiras das raças Holandesa e Jersey, de 60 a 240 dias em lactação, com produção média de 16,25 kg de leite por dia, distribuídas em blocos ao acaso, de forma uniforme em relação à raça, ao período e número de lactações, entre os grupos. A ordenha foi realizada duas vezes ao dia (5 e 16h) e medidas gerais de higiene foram observadas.

Os tratamentos utilizados foram: dieta com inclusão de 400 mL de óleo de linhaça (LIN); dieta com inclusão de 400 mL de óleo de linhaça e aplicação injetável de 0,2 mg/Kg de selenito de sódio (LINSe) e controle (C). O período experimental teve duração de 10 semanas. A dose diária de óleo de linhaça foi medida e misturada a 300 g de farelo de trigo, fornecida uma vez ao dia, após a ordenha da tarde, misturada a ração dos animais, para garantir consumo total. Os primeiros 15 dias foram adaptativos, onde a quantidade de óleo foi fornecida de forma crescente com o passar dos dias, portanto, o consumo total da dose do óleo (400mL) iniciou-se no dia 13 do experimento.

Amostras do concentrado e da silagem foram colhidas e enviadas para análise laboratorial, no NIDAL-UFSM (Núcleo Integrado de Desenvolvimento de Análises Laboratoriais). Foram determinados os teores de matéria seca total (MST), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), todos segundo a AOAC (1995). Fibra em detergente ácido corrigida para cinzas (FDAc) e fibra em detergente neutro corrigida para cinzas (FDNc) conforme VAN SOEST et al. (1991), com adição de alfa amilase termoestável mas sem uso de sulfito. A tabela 1 apresenta estes resultados.

Para as análises sensoriais, as amostras de leite foram colhidas nos dias 30, 60 e 90 do período experimental, durante a ordenha da manhã, de cada animal proporcionalmente, de modo a compor uma amostra homogênea de cada grupo. As amostras de leite de todos os

grupos experimentais foram transportadas refrigeradas e sofreram o processo de pasteurização lenta (65° C por 30') com imediato resfriamento, assim que chegaram ao laboratório. A pasteurização é obrigatória devido à legislação, e interessante também para a padronização das amostras. Posteriormente, as amostras foram mantidas sob refrigeração, até o dia de aplicação dos testes sensoriais.

Para determinar se existia diferença entre as amostras, usou-se o teste de comparação múltipla, realizado com 20 provadores não treinados, recrutados entre alunos e funcionários do curso de Ciência e Tecnologia dos Alimentos – UFSM, e os atributos testados foram cor, odor e sabor. O teste foi aplicado 3 dias após a pasteurização. Fez-se o uso, como padrão conhecido pelos provadores, de um leite pasteurizado não homogeneizado comercializado em Santa Maria / RS. Foi utilizada, para o referido teste, uma escala estruturada em 5 denominações, indo de nenhuma diferença em relação ao padrão conhecido, até extrema diferença em relação ao padrão conhecido, para os atributos cor, odor e sabor (Figura 1). As amostras foram codificadas com três dígitos e apresentadas aleatoriamente, incluindo como uma das amostras ofertadas e codificadas, o mesmo leite do padrão conhecido. Um teste de ordenação foi realizado junto ao de comparação múltipla, pedindo aos provadores que ordenassem de acordo com a preferência, as amostras que recém haviam provado. O teste de ordenação foi feito com uma série de 4 amostras codificadas aleatoriamente, onde o julgador deveria ordená-las em ordem decrescente da mais a menos preferida. O resultado é dado pela soma das ordens obtidas dos julgadores a cada uma das amostras. A figura 1 mostra a ficha de avaliação fornecida aos provadores.

Para a análise estatística dos dados da análise de comparação múltipla usou-se o programa SASM-Agri (ALTHAUS, 2001; CANTERI, 2001). Para os dados do teste de ordenação, a avaliação estatística foi feita pelo teste de Friedman utilizando a tabela de Newell e MacFarlane, sugerido por FERREIRA et al. (2000), para verificar se há ou não

diferença significativa entre as amostras. Quando a diferença entre as somas das ordens for maior ou igual ao valor tabelado, conclui-se que existe diferença significativa entre as amostras ao nível de significância correspondente (Tabela 3).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para determinar a existência de diferença, como a sensorial, entre uma ou mais amostras em relação a um padrão conhecido e estimar essa diferença, faz-se o uso do teste de comparação múltipla ou de diferença do controle (FERREIRA, 2000; DUTCOSKY, 1996). Em relação ao valor numérico apresentado na tabela 2, quanto menor o valor, menos diferença foi observada em relação ao leite da amostra padrão que era conhecida pelos provadores.

No atributo “cor”, no dia 30 do experimento, observou-se que o leite do grupo 1 (linhaça) foi o que mais diferiu do padrão conhecido, e o do grupo 4 (leite comercial padrão) o que menos diferiu. Entre os grupos testados observou-se que o leite dos grupos 1 (linhaça) e do grupo 3 (controle) foram avaliados como diferentes do grupo 4 (padrão). Também se observou diferença entre os grupos 1 e 2 (linhaça+selênio), o que é observado na tabela 2. Nos dias 60 e 90 do experimento as variações na cor não foram observadas.

Quanto aos quesitos “odor” e “sabor”, em nenhum dos tempos de coleta o leite dos grupos experimentais foram avaliados como diferentes do padrão.

Observa-se na tabela 3, que apenas na coleta referente ao dia 30 do experimento houve diferenças significativas em relação à ordenação das amostras, teste este feito juntamente ao de comparação múltipla. A amostra tida como padrão (grupo 4), foi a primeira colocada na preferência dos julgadores, mostrando-se estatisticamente diferente das amostra do grupo 2 (linhaça+selênio), sendo este o menos preferido. Na análise do dia 30 do experimento, por problemas de distribuição da empresa fornecedora do leite usado como padrão conhecido, o

leite que foi usado como padrão era um pasteurizado padronizado homogeneizado, o que justifica as diferenças percebidas na cor, sabor e também na preferência demonstradas pelos julgadores nas avaliações deste dia.

A homogeneização consiste na inserção do leite em um equipamento chamado homogeneizador, que trabalha a alta pressão. A diferença de pressão da entrada do leite com a pressão interna do equipamento é responsável pela quebra do glóbulo de gordura em glóbulos menores o que serve para impedir a formação de nata no leite pasteurizado, deixando o leite mais branco, melhorando o aspecto, palatabilidade e digestão, daí a diferença percebida, pois o leite das outras amostras não era homogeneizado.

Mudanças no perfil de ácidos graxos do leite ocorrem dentro de sete dias, com respostas atingindo um platô após 21 dias, segundo RYHÄNEN et al. (2005) ao utilizar óleo de colza. Os autores também não observaram prejuízo para as características organolépticas da manteiga e do queijo.

KITESSA et al. (2004), concluíram que é possível enriquecer o leite de vacas com ácido linolênico, diminuir a concentração de ácidos graxos saturados, e, além disso, não provocar efeitos sobre a composição, rendimento e características sensoriais. Contrariando os resultados obtidos neste experimento e também os dos autores acima referidos, LACASSE et al. (2002), utilizando 3,7 % na matéria seca de óleo de peixe, obtiveram aumento nos ácidos graxos de cadeia longa, porém com grande prejuízo a composição do leite, com diminuição do teor de proteína e decréscimo na produção. Além disso, o leite foi mais suscetível à oxidação, com aumento no índice de peróxido, e seu sabor foi afetado, pois um painel de degustadores foi capaz de detectar o gosto estranho do leite de vacas que consumiram o maior nível de óleo de peixe protegido, além de não gostarem do leite de vacas que receberam óleo de peixe desprotegido.

LYNCH et al. (2005) forneceram 2% de óleo de soja e 1% de óleo de peixe na dieta de vacas. O leite foi padronizado a 2% de gordura, pasteurizado e homogeneizado e teve sua oxidação induzida pela exposição à luz. Concluiu-se que provadores não treinados foram incapazes de detectar diferenças de sabor. Nota-se com isso, que quando é utilizado óleo de peixe, também rico em ômega 3, um pequeno aumento na quantidade de óleo fornecido parece afetar grandemente a percepção do sabor, descrito por LACASSE et al. (2002), o que não se nota tão facilmente quando utilizam-se óleos vegetais.

CONCLUSÃO

O fornecimento diário de 400 mL de óleo de linhaça na dieta dos animais não é capaz de provocar alterações sensoriais no leite, não necessitando, neste caso, o uso de antioxidantes com o intuito de evitar sabores ou odores desagradáveis no produto.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1598-1624, 2000.
- ALTHAUS, R. A; CANTERI, M. G.; GIGLIOTI, E.A. Tecnologia da informação aplicada ao agronegócio e ciências ambientais: sistema para análise e separação de médias pelos métodos de Duncan, Tukey e Scott-Knott. **Anais do X Encontro Anual de Iniciação Científica**, Parte 1, Ponta Grossa, p. 280-281, 2001.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 12th ed. Washington, 1995.
- CANTERI, M. G. et al. SASM - Agri : Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, n.2, p.18-24, 2001.

DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals.

British Journal of Nutrition, v.78, Suppl. 1, p.S15-S35, 1997.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Ed. Champagnat, 1996. 123p.

FERREIRA, V. L. P. et al. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas, SP: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2000. 127 p.

GRUNDY, S.M.; DENKE, M.A. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins.

Journal of Lipid Research, v.31, n.7, p.1149-1161, 1990.

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

KITESSA, S. M. et al. Supplementation of grazing dairy cows with rumen-protected tuna oil enriches milk fat with n-3 fatty acids without affecting milk production or sensory characteristics. **British Journal of Nutrition**, v. 91, p, 271–277, 2004.

LACASSE, P. et al. Addition of protected and unprotected fish oil to diets for dairy cows. I. Effects on the yield, composition and taste of milk. **Journal of Dairy Research**, v. 69, n.4, p. 511-520, 2002.

LYNCH, J. M. et al. Flavor and Stability of Pasteurized Milk with Elevated Levels of Conjugated Linoleic Acid and Vaccenic Acid. **Journal of Dairy Science**, v.88, p. 489–498, 2005.

NAGARAJA, T. G. et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds.). **The rumen microbial ecosystem**. 2.ed. Great Britain: Blackie Academic & Professional, 1997. p.524-632.

OBLITAS, F. et al. Efecto de la suplementación con selenio sobre la actividad sanguínea de glutatión peroxidasa (GSH-Px) y ganancia de peso en bovinos selenio deficientes mantenidos a pastoreo. **Arquivos de Medicina Veterinária**, v.32, n.1, 2000.

OLIVEIRA, M. A. B. **Análise Sensorial de Alimentos**. São Paulo: Editora Noryan, 2009.

PAL, D. et al. Methods for determination of sensory quality of foods: A critical appraisal. **Journal of Food Science**, v. 32, n. 5, p. 357- 367, 1985.

RYHÄNEN, E. L. et al. Production of conjugated linoleic acid enriched milk and dairy products from cows receiving grass silage supplemented with a cereal-based concentrate containing rapessed oil. **International Dairy Journal**, v. 15, n.3, p.207-217, 2005.

SIMOPOULOS, A. P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicineand Pharmacotherapy**, v.56, n.8, p.365-379, 2002.

SURAI, P.F. **Selenium in nutrition and health**. 1st ed. United Kingdom: Nottingham University Press, 2006. 974p.

VAN SOEST, P.J; et al. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3598, 1991.

WARD, A.T. et al. Bovine milk fatty profile produced by feeding diets containing solin, flax and canola. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.1191-1196, 2002.

Tabela 1 – Composição química dos alimentos fornecidos durante o período experimental.

	RAÇÃO	FARELO TRIGO	SILAGEM MILHO
MS	88,35	89,57	28,8
MST	88,35	89,57	94,7
CZ (%MS)	9,24	3,53	4,49
CZ (%AI)	8,17	3,17	1,29
PB (%MS)	24,82	16,06	5,61
PB (%AI)	21,93	14,39	1,61
FDNc (%MS)	25,7	28,76	46,7
FDNc (%AI)	22,7	25,76	13,45
FDAc (%MS)	10,49	11,41	25,53
FDAc (%AI)	9,27	10,22	7,35
EE (%MS)	5,75	2,84	3,92
EE (%AI)	5,08	2,54	1,13

MS (matéria seca); MST (matéria seca total); CZ (cinzas); AI (amostra integral); PB (proteína bruta); FDNc (fibra em detergente neutro corrigida para cinzas); FDAc (fibra em detergente ácido corrigida para cinzas); EE (extrato etéreo).

Tabela 2 - Médias do teste de comparação múltipla para os atributos cor, odor e sabor das amostras de leite.

ASPECTOS	LIN	LINSe	CONTROLE	PADRÃO
COR (DIA30)	2,7 ^a	1,75 ^{bc}	2,45 ^{ab}	1,35 ^c
ODOR (DIA30)	1,95 ^a	1,75 ^a	1,85 ^a	1,7 ^a
SABOR (DIA30)	2,1 ^a	2,75 ^a	2,15 ^a	2,15 ^a
COR (DIA60)	2,75 ^a	2,7 ^a	2,35 ^a	1,9 ^a
ODOR (DIA60)	1,75 ^a	1,95 ^a	1,85 ^a	1,95 ^a
SABOR (DIA60)	2,2 ^a	2,7 ^a	2,5 ^a	2,75 ^a
COR (DIA90)	1,67 ^a	2,09 ^a	2,14 ^a	1,86 ^a
ODOR (DIA90)	1,86 ^a	1,90 ^a	1,86 ^a	1,57 ^a
SABOR (DIA90)	2,19 ^a	2,33 ^a	2,62 ^a	2,24 ^a

Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem entre si a $p < 0,05$.

Tabela 3 - Médias do teste de aceitação para os atributos cor, odor e sabor das amostras de leite.

MÉDIAS	LIN	LINSe	CONTROLE	PADRÃO
DIA 30	63 ^b	70 ^b	65 ^b	39 ^a
DIA 60	56 ^a	62 ^a	55 ^a	65 ^a
DIA 90	60 ^a	70 ^a	62 ^a	56 ^a

Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem entre si a $p < 0,05$.

Figura 1 – Ficha de avaliação fornecida aos provedores.

Você está recebendo uma amostra controle (C) e cinco amostras codificadas. Por favor, compare cada uma com o controle quanto aos atributos: cor, odor e sabor. Expresse o valor da diferença utilizando a escala abaixo:

COR

AMOSTRAS	1 NENHUMA	2 LIGEIRA	3 MODERADA	4 MUITA	5 EXTREMA
256					
374					
812					
581					

ODOR

AMOSTRAS	1 NENHUMA	2 LIGEIRA	3 MODERADA	4 MUITA	5 EXTREMA
256					
374					
812					
581					

SABOR

AMOSTRAS	1 NENHUMA	2 LIGEIRA	3 MODERADA	4 MUITA	5 EXTREMA
256					
374					
812					
581					

Ordene as amostras de acordo com a sua preferência:

1º lugar _____

2º lugar _____

3º lugar _____

4º lugar _____

4. DISCUSSÃO GERAL

Conforme o artigo contido no capítulo 1, com 15 dias de suplementação com o óleo de linhaça, os ácidos graxos de cadeia longa (C18) apresentaram-se aumentados no grupo suplementado com linhaça via oral e selênio injetável (LINSe) em relação ao grupo suplementado apenas com linhaça via oral (LIN) e ao controle (C), o que não foi observado nos trabalhos de RAMASWAMY et al (2001) e PASCHOAL et al. (2007), porém, os mesmos autores relataram os valores aumentados de ácido linoleico conjugado nos grupos tratados com óleo, o que também foi observado nos grupos LIN e LINSe (1,06 e 1,26 g/100g), respectivamente. Em trabalhos utilizando grão de soja triturado (SANTOS et al. 2001) e soja extrusada (PASCHOAL et al. 2007), as concentrações de CLA são numericamente inferiores as encontradas em nosso estudo. Isso demonstra que a maior concentração deste ácido graxo é obtida utilizando-se o óleo e não os grãos de oleaginosas, mesmo quando estes sofrem processo térmico ou mecânico, já que segundo esses autores, o baixo nível de CLA, poderia estar relacionado à baixa disponibilidade dos lipídios à bio-hidrogenação ruminal, uma vez que estariam presos a matriz proteica da semente. O ômega 3 ou ácido linolênico, também apresentou níveis aumentados nos animais tratados com óleo de linhaça em relação ao grupo controle, o que não foi observado por PASCHOAL et al. (2007).

O estudo demonstra que houve alteração no perfil lipídico do leite, aumentando assim os ácidos graxos poli-insaturados, que são mais suscetíveis a oxidação, o que foi confirmado através dos valores de TBARS nos tempos 24 e 96 da análise, onde o grupo LIN diferiu significativamente dos demais, mostrando-se mais oxidado, e o grupo LINSe manteve a oxidação mais baixa, assim como o grupo controle, indicando possível efeito do selênio suplementado, como promotor do efeito antioxidante observado. Usando suplementação oral com selênio orgânico e soja extrusada, PASCHOAL et al. (2007) relataram o mesmo aumento na oxidação no tempo 96 de análise, além de observar que houve menos oxidação no leite dos animais que receberam suplementação com selênio em relação aos que receberam apenas dieta lipídica.

Em relação à atividade da enzima selênio-dependente glutathiona peroxidase (GSHPx) no leite, apesar de não demonstrar diferença estatística, numericamente houve uma tendência ao aumento da atividade enzimática no grupo LINSe (3056,7±472,27) em relação ao grupo LIN (2630,3±926,01) e ao controle (2292,4±545,30). Conforme descrito por OBLITAS et al. (2000), no sangue, a atividade desta enzima foi maior com uso de suplementação injetável de

selênio, perdurando até 90 dias pós aplicação. Porém no leite bovino, STAGSTED (2006) não conseguiram detectar qualquer atividade da GSHPx, contrariando HOJO (1982), que detectou atividade da enzima em leite cru. STAGSTED (2006) ainda cita que a presença e a importância da GSHPx para a estabilidade oxidativa do leite de vaca ainda não é clara. Para PHIPPS et al. (2008), embora GSHPx seja uma importante enzima dependente de selênio no leite, outros compostos também apresentam atividade antioxidante, como o selênio livre, por exemplo. Assim justificam-se os resultados inexpressivos da atividade da enzima encontrados no grupo tratado com selênio apesar da oxidação ter sido retardada neste grupo.

Sabe-se que o leite que apresenta seu perfil lipídico modificado pela adição de lipídios na dieta das vacas, pode apresentar alterações de cor, odor e sabor.

Com duração de 90 dias, e com aplicação dos testes de comparação múltipla e de ordenação (FERREIRA, 2000; DUTCOSKY, 1996) a cada 30 dias, utilizando provadores não treinados, o estudo descrito no capítulo 2 observou que apenas no dia 30 de aplicação do teste, houve diferenças perceptíveis no atributo cor entre os grupos testados, e o grupo padrão (amostra do mesmo leite usado como padrão) foi, também neste dia considerado o mais preferido pelos provadores. Essas diferenças são justificadas, pois houve a utilização como padrão para a comparação, neste dia de um leite homogeneizado. O processo de homogeneização quebra o glóbulo de gordura em glóbulos menores e serve para impedir a formação de nata no leite pasteurizado, o que também deixa o leite mais branco, melhorando o aspecto, a palatabilidade e a digestão. RYHÄNEN et al. (2005) ao utilizar óleo de colza, relatam que as mudanças no perfil de ácidos graxos do leite ocorrem dentro de sete dias, com respostas atingindo um platô após 21 dias, e não observaram prejuízo para as características organolépticas da manteiga e do queijo.

MAIA et al. (2006) , utilizando óleo de soja e óleo de canola na dieta de cabras em lactação, KITESSA et al. (2004) utilizando óleo de atum protegido e LACASSE et al. (2002) utilizando óleo de peixe, relatam alteração no perfil lipídico do leite, elevando a concentração de ácidos graxos mono (AGMS) e poli-insaturados (AGPI), de ácidos graxos de cadeia longa e de ômega-3 e 6. Para KITESSA et al. (2004), não houve prejuízo para as características sensoriais. Contrariando os resultados obtidos no experimento contido no segundo capítulo, e os de KITESSA et al. (2004), LACASSE et al. (2002), ao usar óleo de peixe a 3,7 % na matéria seca, observaram que o leite foi mais suscetível à oxidação, com aumento no índice de peróxido, e seu sabor foi afetado, pois um painel de degustadores foi capaz de detectar o gosto estranho do leite de vacas que consumiram o maior nível de óleo de peixe protegido, além de não gostarem do leite de vacas que receberam óleo de peixe desprotegido.

Concordando com o estudo descrito pelo capítulo 2, onde os provadores não descreveram mudanças perceptíveis no sabor quando o leite não apresentava diferenças no processamento, LYNCH et al. (2005) ao fornecer uma mistura de óleo de soja e de peixe para vacas, e padronizar a gordura, pasteurizar e homogeneizar o leite, além de expor à luz para estimular o processo de oxidação, concluíram que provadores não treinados foram incapazes de detectar diferenças de sabor. Observa-se com isso, que quando é utilizado óleo de peixe, também rico em ômega 3, um pequeno aumento na quantidade de óleo fornecida parece afetar grandemente a percepção do sabor, o que foi descrito por LACASSE et al. (2002), porém isto não é observado tão facilmente quando utilizam-se óleos vegetais.

5. CONCLUSÕES

Os resultados do presente trabalho permitem concluir que:

- A adição de 400 mL diários de óleo de linhaça na dieta de vacas leiteiras altera o perfil de ácidos graxos do leite, aumentando os teores de ácidos graxos poli-insaturados, e também acelerando o processo de oxidação do leite. O uso de selenito de sódio injetável na dose de 0,2 mg/Kg é capaz de estimular a atividade antioxidante, retardando a oxidação do leite com teores aumentados de ácidos graxos poli-insaturados.

- O fornecimento diário de 400 mL de óleo de linhaça na dieta dos animais não é capaz de provocar alterações sensoriais no leite, não necessitando, neste caso, o uso de antioxidantes com o intuito de evitar sabores ou odores desagradáveis no produto.

6. REFERÊNCIAS

ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1598-1624, 2000.

ALTHAUS, R. A; CANTERI, M. G.; GIGLIOTI, E.A. Tecnologia da informação aplicada ao agronegócio e ciências ambientais: sistema para análise e separação de médias pelos métodos de Duncan, Tukey e Scott-Knott. **Anais do X Encontro Anual de Iniciação Científica**, Parte 1, Ponta Grossa, p. 280-281, 2001.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 12th ed. Washington, 1995.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry Physiology** v. 37, p. 911-917, 1959.

BYERS, F.M.; SCHELLING, G.T. Lipids in ruminant nutrition. In: CHURCH, D.C. **The ruminant animal: digestive, physiology and nutrition**. 2.ed. New Jersey: Waveland Press, p.298-312, 1993.

CANTERI, M. G. et al. SASM - Agri : Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scoft - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, n.2, p.18-24, 2001.

DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal of Nutrition**, v.78, Suppl. 1, p.S15-S35, 1997.

DRISCOLL, D.M.; COPELAND, P.R. Mechanism and regulation of selenoprotein synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v.23, p.17-40, 2003.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Ed. Champagnat, 1996. 123p.

FERREIRA, V. L. P. et al. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas, SP: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2000. 127 p.

FRANKEL, E.N. Review: recent advances in lipid oxidation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.54, n.4, p.495-511, 1991.

GRUMMER, R.R.; CARROL, D.J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v.69, n.9, p.3838-3852, 1991.

GRUNDY, S.M.; DENKE, M.A. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. **Journal of Lipid Research**, v.31, n.7, p.1149-1161, 1990.

HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Ed.) **The Rumen Microbial Ecosystem**. 2.ed. Blackie Academic & Professional: Great Britain, 1997. p.382-419.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, n.8, p.475-476, 1973.

HOJO, Y. Selenium concentration and glutathione peroxidase activity in cow's milk. **Biological Trace Element Research**, v. 4, p. 233-239, 1982.

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

KITESSA, S. M. et al. Supplementation of grazing dairy cows with rumen-protected tuna oil enriches milk fat with n-3 fatty acids without affecting milk production or sensory characteristics. **British Journal of Nutrition**, v. 91, p. 271–277, 2004.

LACASSE, P. et al. Addition of protected and unprotected fish oil to diets for dairy cows. I. Effects on the yield, composition and taste of milk. **Journal of Dairy Research**, v. 69, n.4, p. 511-520, 2002.

LINDMARK-MANSSON, H.; AKESSON, B. Antioxidative factors in milk. **British Journal of Nutrition**, v.84, p.103-110, 2000.

LORGERIL, M. De; SALEN, P. Fish and n-3 fatty acids for the prevention and treatment of coronary heart disease: nutrition is not pharmacology. **The American Journal of Medicine**, v.112, n.4, p.316-319, 2002.

LYNCH, J. M. et al. Flavor and Stability of Pasteurized Milk with Elevated Levels of Conjugated Linoleic Acid and Vaccenic Acid. **Journal of Dairy Science**, v.88, p. 489–498, 2005.

NAGARAJA, T. G. et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds.). **The rumen microbial ecosystem**. 2.ed. Great Britain: Blackie Academic & Professional, 1997. p.524-632.

NAWAR, W.W. Radiolysis of nonaqueous components of foods. In: JOSEPHSON, E.S., PETERSON, M.S. (Eds.). **Preservation of Food by Ionizing Radiation**, v. 2. Boca Raton: CRC Press. 1983. p. 78–81.

NRC - NUTRIENT REQUIREMENTS OF DAILY CATTLE. 7.ed. Washington: National Academy of Science, 2001.

OBLITAS, F. et al. Efecto de la suplementación con selenio sobre la actividad sanguínea de glutatión peroxidasa (GSH-Px) y ganancia de peso en bovinos selenio deficientes mantenidos a pastoreo. **Arquivos de Medicina Veterinária**, v.32, n.1, 2000.

OLIVEIRA, M. A. B. **Análise Sensorial de Alimentos**. São Paulo: Editora Noryan, 2009.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v.70, p. 158-169, 1967.

PAL, D. et al. Methods for determination of sensory quality of foods: A critical appraisal. **Journal of Food Science**, v. 32, n. 5, p. 357- 367, 1985.

PASCHOAL, J.J. et al. Perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite de vacas holandesas alimentadas com soja extrusada e selênio orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.12, p.1793-1799, 2007.

PETIT, H.V. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n.6, p.1482-1490, 2002.

PHIPPS, R. H. et al. Selenium supplementation of lactating dairy cows: effects on milk production and total selenium content and speciation in blood, milk and cheese. **Animal**, v.2:11, p. 1610-1618, 2008.

RAMASWAMY, N. et al. Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.2144-2151, 2001.

RYHÄNEN, E. L. et al. Production of conjugated linoleic acid enriched milk and dairy products from cows receiving grass silage supplemented with a cereal-based concentrate containing rapessed oil. **International Dairy Journal**, v. 15, n.3, p.207-217, 2005.

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

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

SILVA, D.C.; CAVALIERI, F.L.B.; SANTOS, G.T. et al. Fontes de gordura na dieta sobre a digestibilidade e concentrações sanguíneas de alguns metabólitos em vacas da raça holandesa. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2006, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia [2005]. CD-ROM. Nutrição de ruminantes.

SIMOPOULOS, A. P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v.56, n.8, p.365-379, 2002.

STAGSTED, J. Absence of both glutathione peroxidase activity and glutathione in bovine milk. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 662-668, 2006.

SUNDE, R.A.; HOEKSTRA, W.G. Incorporation of selenium from selenite and selenocystine into glutathione peroxidase in the isolated perfused rat liver. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.93, p.1181-1188, 1980.

SURAI, P.F. **Selenium in nutrition and health**. 1st ed. United Kingdom: Nottingham University Press, 2006. 974p.

TANAKA, K. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. **Animal Science Journal**, v.76, n.4, p.291-303, 2005.

VAN SOEST, P.J. et al. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3598, 1991.

WARD, A.T.; WITTENBERG, K.M.; PRZYBYISKI, R. Bovine milk fatty profile produced by feeding diets containing solin, flax and canola. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.1191-1196. 2002.