

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

Ana Paula Huttra Kleemann

**PRODUÇÃO, ANÁLISE QUÍMICA E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS
DO LEITE DE VACAS EM PASTAGEM DE AZEVÉM
SUPLEMENTADAS COM GLICERINA BRUTA.**

Santa Maria, RS, Brasil

2017

Ana Paula Huttra Kleemann

**PRODUÇÃO, ANÁLISE QUÍMICA E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE DE
VACAS EM PASTAGEM DE AZEVÉM SUPLEMENTADAS COM GLICERINA
BRUTA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Zootecnia.**

Orientador: Prof. Dr. Julio Viégas

Santa Maria, RS
2017

**Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática
da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

© 2017

Todos os direitos autorais reservados a Ana Paula Huttra Kleemann. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: annahuttra@gmail.com

Ana Paula Huttra Kleemann

**PRODUÇÃO, ANÁLISE QUÍMICA E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO
LEITE DE VACAS EM PASTAGEM DE AZEVÉM SUPLEMENTADAS COM
GLICERINA BRUTA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Zootecnia**.

Aprovado em 07 de Abril de 2017

Julio Viégas, Dr. (UFSM)

(Orientador)

José Laerte Nornberg, Dr. (UFSM)

Emerson André Pereira, Dr. (UNIJUÍ)

Santa Maria, RS
2017

AGRADECIMENTOS

A Deus por permitir que minha caminhada fosse guiada por sua luz. Por ter me dado a vida e dela poder fazer instrumento de sabedoria e conhecimento.

A minha filha Valentina. Minha pequena grande inspiração, fonte de entusiasmo, de carinho e amor. Por você cheguei até aqui! Tua sinceridade e afeto tornaram essa caminhada mais amena... Te amo imensamente!

A minha irmã Isabel, que mesmo longe esteve perto, me motivando a continuar, quando tudo parecia ter acabado. Com certeza um pedaço de nossa mãe que ficou aqui para me dar força e entendimento.

A meu espelho de mulher: minha avó Gelcy. Guerreira, vitoriosa, determinada, que em seus 84 anos, esbanja vitalidade, sabedoria e carinho incomuns. Te admiro hoje e sempre! E a toda minha família: irmãs, tios e tias que possibilitaram a mim fazer uma graduação. Aos primos que torceram por minha conquista na pós-graduação. Aos dindos e dindas que sempre que puderam, estiveram presentes.

Ao professor Julio Viégas pela orientação, ensinamentos e oportunidade de aprendizado nestes anos de estudos.

A Denize da Rosa Fraga, professora e orientadora de graduação, que tornou-se uma grande amiga e colega nesta pesquisa de pós-graduação. As colegas e amigas da pós-graduação, Magda Metz e Jordana Schiavo. À Geresa Massuquini e Jaqueline Bilibio, por serem esteios nos momentos de fraqueza. Ao amigo Emerson Pereira, que por muitas vezes mostrou-se preocupado comigo, e incentivou-me em todos os sentidos a buscar sempre mais. Vocês são exemplos de humildade e determinação!

Ao IRDeR/UNIJUÍ e seus funcionários, aos estagiários do grupo de pesquisa em Saúde Animal (UNIJUÍ), estagiários do NUPECLE (UFSM), que não mediram esforços para que este trabalho fosse realizado da melhor forma possível.

As empresas Três Tentos Agroindustrial S/A pela doação da glicerina bruta utilizada o experimento e a Bioclin pela doação dos reagentes para análise bioquímica do plasma e urina.

Ao CNPq pela concessão dos recursos para execução do experimento.

A todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para que eu alcançasse meu objetivo.

Esse trabalho é fruto de todos... Somos todos vitoriosos!

Muito obrigado

“Ao homem que o agrada,
Deus recompensa com sabedoria,
conhecimento e felicidade.”

Eclesiastes 2:26

RESUMO

PRODUÇÃO, ANÁLISE QUÍMICA E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE DE VACAS EM PASTAGEM DE AZEVÉM SUPLEMENTADAS COM GLICERINA BRUTA

AUTORA: Ana Paula Huttra Kleemann

ORIENTADOR: Julio Viégas

Com o objetivo de avaliar o uso de glicerina bruta como suplemento energético na dieta para vacas em lactação mantidas em sistema pastoril de azevém (*Lolium multiflorum*), foi conduzido no Instituto Regional de Desenvolvimento Rural, em Augusto Pestana, RS, Brasil, um experimento com 18 vacas da raça holandesa, em um delineamento com blocos (conforme os dias em lactação) em esquema de reversão simples, em três períodos de 14 dias. As dietas foram constituídas de azevém em pastejo, suplementado com silagem de milho e concentrado, acrescido (grupo tratado) ou não (grupo controle) de 10% de glicerina bruta com base na matéria seca (MS) total. Foram coletadas e analisadas amostras de alimentos e leite. Os dados foram submetidos à análise de variância e o efeito de tratamento comparado pelo teste T através do programa estatístico SAS. Verificou-se que a inclusão de glicerina bruta não afeta a produção e a composição do leite. O somatório de ácidos graxos saturados (Σ AGS) e os ácidos caprílico, cáprico e láurico obtiveram significância ($P < 0,05$) em relação ao grupo controle, aumentando seus valores com a inclusão de glicerina bruta na dieta. Dos ácidos monoinsaturados, o oleico foi o que apresentou significância ($P < 0,05$), aumentando os valores quando a glicerina não foi instituída na dieta (grupo controle), assim como o somatório dos ácidos graxos monoinsaturados (Σ AGMI). Os ácidos graxos poliinsaturados não diferiram entre os tratamentos ($P > 0,05$). Conclui-se que a adição de glicerina bruta na dieta de vacas leiteiras não afeta a produção de leite ou a qualidade do mesmo, sendo uma boa opção de suplementação energética. Para a composição de ácidos graxos, o uso da glicerina bruta afetou indesejavelmente os índices de ácidos saturados.

Palavras-chave: Glicerina Bruta. Leite. Ácidos graxos.

ABSTRACT

PRODUCTION, CHEMICAL ANALYSIS AND PROFILE OF FATTY MILK FROM VEGETATION COWS IN AZEVÉM PASTURE SUPPLEMENTED WITH CRUDE GLYCERINE

AUTHOR: Ana Paula Huttra Kleemann

ORIENTATOR: Julio Viégas

RESUME: The objective of this study was to evaluate the use of crude glycerin as an energetic supplement in the diet for lactating cows kept in a ryegrass (*Lolium multiflorum*) system. Eighteen Holstein cows were used in a experiment carried out at Regional Institute for Rural Development in Augusto Pestana, RS, Brazil, distributed in a block design (according to the days in lactation) in a simple reversion scheme, in three periods of 14 days each on. The diets were composed of grazing ryegrass, supplemented with corn silage and concentrate, with or without 10% crude glycerin on a total dry matter basis (DM). Samples of food and milk were collected and analyzed. Data were submitted to analysis of variance and the effect of treatment compared by the T test through the SAS statistical program. The inclusion of GB does not affect milk production and composition. The sum of saturated fatty acids (Σ AGS) and caprylic, capric and lauric acids were significant ($P < 0.05$) in relation to the control group, increasing their values with the inclusion of crude glycerin in the diet. In relation to the monounsaturated acids the oleic acid the values were heigher when glycerin was not established in the diet (control group), as well as the sum of monounsaturated fatty acids (Σ AGMI). Polyunsaturated fatty acids did not differ between treatments ($P > 0.05$). We concluded that the inclusion of crude glycerin in the diet of dairy cows does not affect milk production or milk quality and is a good option for energy supplementation.

Keywords: Glycerin Crude. Milk. Fatty acids.

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química da glicerina bruta e proporção de ácido graxos	23
Tabela 2 - Resultados das análises bromatológicas dos três períodos experimentais, para pastagem de azevém, silagem de milho e concentrado.....	24
Tabela 3 - Resultados das análises para composição nutricional da dieta dos períodos experimentais (%MS)	25
Tabela 4 - Perfil de ácidos graxos (%) presentes da dieta fornecida aos animais durante os períodos experimentais.....	27
Tabela 5 - Médias por períodos e médias gerais \pm desvio padrão dos teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, contagem de células somáticas, ureia e produção de leite de vacas suplementadas com Glicerina bruta a 10% da MS consumida e sem suplementação nos diferentes períodos experimentais.....	29
Tabela 6 - Perfil de ácidos graxos saturados (%) e agrupamento dos mesmos, no leite de vacas holandesas suplementas a 10% de glicerina bruta com base na MS da dieta total e sem suplementação nos diferentes períodos experimentais.....	31
Tabela 7 - Perfil de ácidos graxos monoinsaturados (%) e agrupamento dos mesmos, no leite de vacas holandesas suplementas a 10% de glicerina bruta com base na MS da dieta total e sem suplementação nos diferentes períodos experimentais.....	32
Tabela 8 - Perfil de ácidos graxos poliinsaturados (%) e agrupamento dos mesmos, no leite de vacas holandesas suplementas a 10% de glicerina bruta com base na MS da dieta total e sem suplementação nos diferentes períodos experimentais	34
Tabela 9 - Médias dos agrupamentos de ômega 6 e ômega 3 e suas relações; médias e desvio padrão de índice de aterogenicidade e índice de trombogenicidade de ácidos graxos no leite de vacas holandesas suplementas a 10% de glicerina bruta com base na MS da dieta total e sem suplementação nos diferentes períodos experimentais.....	35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.2	OBJETIVOS	12
1.2.1	Objetivo Geral	12
1.2.2	Objetivos Específicos.....	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	PRODUÇÃO DE LEITE EM PASTAGENS DE AZEVÉM	13
2.2	GLICERINA BRUTA: FONTE ENERGÉTICA NA DIETA DE BOVINOS LEITEIROS	14
2.3	COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NO LEITE.....	16
3	PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NO LEITE DE VACAS HOLANDESAS MANTIDAS EM SISTEMA PASTORIL SUPLEMENTADAS COM GLICERINA BRUTA	20
3.1	RESUMO	20
3.2	PALAVRAS - CHAVE	20
3.3	INTRODUÇÃO	20
3.4	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
3.6	CONCLUSÃO	37
3.7	REFERÊNCIAS	37
4	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1 INTRODUÇÃO

A estimativa da produção mundial de leite no último ano sofreu ligeira queda. Países da União Europeia, Nova Zelândia, Austrália e Estados Unidos, desaceleraram a produção, devido à baixa demanda, efeitos climáticos e altos custos com a produção. A América do Sul, Argentina e Uruguai, seguiram esta tendência. O Brasil, apesar de manter o crescimento a décadas, reduziu o volume nos últimos anos, mas tende ao crescimento.

A dificuldade para a incorporação de novas áreas produtivas de alimentos, condições climáticas, e o comércio (demanda e custo de produção), interferem diretamente na produção. Assim, é necessária atenção a esse cenário uma vez que os desafios referentes a qualidade e quantidade são limitantes à atividade leiteira, pois estão sujeitos a estas variações. A cada ano é preciso produzir mais alimentos nas mesmas áreas, mas deve-se ter a preocupação de manter e recuperar os recursos naturais existentes objetivando a preservação, sem descuidar da sustentabilidade econômica.

A nutrição (ou a dieta) tem um custo elevado na produção dos animais, sendo intensa e constante a busca por novos ingredientes que se tornem viáveis financeiramente e ao desempenho animal (SILVA, 2010). Devido ao valor alto de alguns volumosos conservados, a utilização de pastagens como base para a alimentação animal nas condições brasileiras constitui-se na alternativa mais econômica para maior lucratividade da atividade leiteira (MATOS, 1995; VILELA et al., 1996). No inverno sul-brasileiro o azevém anual (*Lolium multiflorum Lam.*) destaca-se por ser a espécie mais cultivada dentre as gramíneas forrageiras (MORAES et al, 1995).

Existe ainda no Brasil controvérsias sobre a produção de leite a pasto, mas nota-se que há uma busca por informações que tentem contornar os aspectos desfavoráveis que este tipo de produção possa acarretar, como por exemplo, os baixos níveis de nutrientes (CERUTTI, 2014). De acordo com Silva et al (2010) suprir as necessidades nutricionais dos animais e manter a produção leiteira constante durante o ano todo, são desafios a serem contornados neste contexto de produção. Assim, a suplementação visa complementar a deficiência de nutrientes da forrageira, principalmente, em energia e proteína, melhorar os índices de produtividade leiteira e índices reprodutivos, incrementar a ingestão de matéria seca e com isso, o aporte energético aos animais.

Com relação à composição do leite a gordura se destaca por ser, em ruminantes, o componente que apresenta a maior variabilidade em sua concentração. Relatos da

literatura demonstraram que a porcentagem de gordura do leite pode ser reduzida em até 46% por dietas que contêm altos níveis de grãos e ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) (PIPEROVA et al., 2000). Na depressão da gordura do leite induzida pela dieta, a proporção de AG sintetizados de *novo* na glândula mamária é reduzida de maneira significativa (LOOR e HERBEIN, 1998). Sob estas condições, a síntese de *novo* de AG pode ser limitante para a síntese de gordura de leite. Sabendo disso é necessário compreender a regulação metabólica da síntese da gordura do leite com o intuito de fornecer orientações práticas que ajudem os produtores a obter um leite de melhor qualidade nutricional, sem afetar o volume de leite produzido (BECKER, 2015). Também representa o maior valor econômico do produto e, igualmente, contribui para a densidade dos produtos lácteos e para muitas das suas propriedades físicas, dos atributos de processamento e das qualidades organolépticas (HARVATINE et al., 2009).

Já a produção de biodiesel vem ganhando cada vez mais espaço na indústria brasileira. Desta produção se obtém um coproduto chamado glicerina bruta que vem sendo alvo de pesquisas para inclusão na dieta animal como fonte energética, substituindo o milho, por exemplo. Este produto é obtido da transesterificação catalítica dos triglicerídeos de diferentes oleaginosas durante a produção do biodiesel, de onde cerca de 10% do total produzido é transformado em glicerina bruta. Este montante é utilizado atualmente em indústrias cosméticas, farmacêuticas e alimentícias mas ainda assim há uma defasagem na utilização (PEGORARO et al, 2012).

O grande interesse na utilização de glicerina na alimentação animal é devido ao seu alto valor energético (MENTEN et al, 2008). Nutricionalmente surge como fonte energética alternativa e promissora, podendo substituir em parte os concentrados energéticos da ração (FAVARO, 2010).

Pensando nisto, busca-se a inclusão da glicerina bruta a 10% de MS total na dieta animal, sob pastejo em azevém anual como base alimentar. Espera-se que a composição e produção do leite não sofram alterações.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Geral

Avaliar a influência da suplementação com glicerina bruta na dieta de vacas leiteiras sob pastejo de azevém anual, no que se refere à produção e composição do leite.

1.1.2 Específicos

A) Avaliar o efeito da glicerina bruta na produção e composição físico-química do leite;

B) Avaliar o efeito da glicerina bruta no perfil dos ácidos graxos no leite;

C) Avaliar os valores de CLA, ômega 3 e ômega 6 e suas relações no perfil dos ácidos graxos no leite de vacas suplementadas com glicerina bruta.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PRODUÇÃO DE LEITE EM PASTAGENS DE AZEVÉM

Na bovinocultura leiteira, a alimentação é o componente de maior participação no custo da produção. Sendo assim, busca-se minimizar o uso de concentrados e tornar o pasto relativamente autossuficiente na alimentação do rebanho, através da utilização adequada de pastagens reduzindo os custos (SILVA, 2011). O sistema de produção de leite com base em pasto é o que oferece as fontes de nutrientes mais econômicas. Além deste aspecto, a utilização mais racional das pastagens auxilia na preservação dos recursos renováveis (HOLMES, 1995).

A intensificação de sistemas de produção com base em pasto, fez com que áreas tradicionalmente utilizadas para produção de grãos no verão, dessem suporte a atividade leiteira nos períodos frios, com espaço ao cultivo de forragens anuais. Desta forma, os sistemas foram caracterizados como lavoura-pecuária (MELLO et al. 2004). A região Sul do Brasil, concentra a produção de soja e milho no verão e no inverno produção animal (principalmente leite) em pastagens de aveia e azevém (MARTIN et al., 2010). Tendem a ser economicamente mais eficientes, pois promovem menor impacto ambiental, em função da maior ciclagem de nutrientes (GARCIA et al., 2004).

A produtividade e a qualidade da pastagem estão condicionadas à fertilização do solo, bem como ao seu manejo (CECATO et al., 2002), viabilizando a utilização do sistema de lotação rotacionada, que permite uma maior taxa de lotação de animais e eficiência forrageira (LIMA et al., 2007). Este sistema, em pastejo rotacionados torna-se uma interessante opção para a produção de leite a pasto, por viabilizar melhores condições de oferta de alimento forrageiro.

Segundo Rocha et al., (2007) as forragens mais utilizadas no inverno são aveia preta (*Avena Strigosa Schereb.*) e o azevém (*Lolium Multiflorum Lam.*). O uso do azevém se dá pela facilidade de ressemeadura natural, resistência a doenças, bom potencial de produção de sementes e possibilidade de consorcio com outras forragens (SANTOS et al., 2002). Quando no estágio vegetativo, dependendo do clima e nível de adubação nitrogenada, o azevém pode ter altos teores de proteína solúvel e nitrogênio não proteico (MORAES et al., 1995).

A exploração racional e o total aproveitamento do pasto requerem o desenvolvimento de sistemas que maximizem a ingestão de forragem pelo bovino e

melhore a eficiência de uso dos nutrientes fornecidos através da suplementação, com o intuito de aumentar a ingestão diária de energia e o desempenho animal, além daquilo que é permitido pela pastagem. A eficiência do suplemento depende do efeito do mesmo, sobre a ingestão de pastagem pelas vacas e, portanto, é fundamental a compreensão das inter-relações entre as variáveis da pastagem, as características do suplemento e as exigências dos animais (BRANCO et al., 2002).

Para obter um resultado satisfatório na suplementação de bovinos em pastejo, há necessidade de se conhecer as exigências dos animais e dos microrganismos do rúmen. Avaliando, além do consumo, o conteúdo de nutrientes da forragem disponível (proteína degradável e não degradável e de energia digestível), possíveis interações que ocorrem entre o consumo e a digestibilidade do volumoso e do suplemento (PARSONS & ALLISON, 1991).

O fornecimento de suplementos alimentares na dieta de vacas em lactação a pasto assume maior ou menor importância, em razão do potencial de produção de leite do animal e da fase de lactação em que se encontram. Suplementando vacas em pastejo faz-se necessário o estabelecimento de um plano anual a ser aplicado dentro das possibilidades da propriedade para se chegar a uma condição de alta lucratividade (NOGUEIRA, 2003). Diante disto, surgem algumas opções de coprodutos resultantes da fabricação de biodiesel, de modo que reduza-se a dependência que os produtores têm de alimentos tradicionais, que geralmente apresentam preços elevados.

2.2 GLICERINA BRUTA: FONTE ENERGÉTICA NA DIETA DE BOVINOS LEITEIROS

Na atividade leiteira a atenção à nutrição é fundamental para viabilizar o sistema de produção. A base dos concentrados ofertados na alimentação bovina provem do milho (fonte energética) e farelo de soja (fonte proteica). A glicerina bruta (subproduto da fabricação de biodiesel) surge como alternativa a substituição do milho, por ser um composto altamente energético.

O biodiesel é definido como um mono-álquil éster de ácidos graxos, derivado de fontes renováveis, tais como óleos vegetais e gorduras animais. É obtido através do processo de transesterificação desses óleos vegetais com álcoois (metanol ou etanol) através de catálise básica, que utiliza o hidróxido de sódio (ou potássio) como catalisadores ou ainda pela esterificação desses materiais na presença de catalisadores

ácidos, ocorrendo a transformação de triglicerídeos em moléculas menores de ésteres de ácidos graxos, e tendo como subproduto a glicerina bruta, com teores de glicerol variando de 80 a 95 % (RAMOS et al., 2000). Nas plantas de produção de biodiesel no Brasil, o álcool utilizado é o metanol, assim como o catalisador mais utilizado é o hidróxido de sódio. Desta forma, existe também um resíduo de sódio na glicerina bruta gerada neste processo (ANP, 2015).

No processo mais comum de produção de biodiesel o metanol é usado em excesso na reação de transesterificação. Ocorrida a formação dos ésteres, há a separação da fase lipídica, com os componentes apolares, e da fase aquosa, com os componentes polares. A glicerina, água e metanol compõem a fase aquosa. A maior parte do metanol é recuperado por destilação e reciclado ao processo, porém de forma incompleta. A indústria estabelece o valor máximo de 0,5% de metanol na glicerina bruta produzida. De acordo com Dasari (2007), esse problema do resíduo de metanol tende a ser mais pronunciado em pequenas plantas de biodiesel. Entretanto, nos Estados Unidos foi estabelecido que, para a glicerina bruta ser usada como componente de alimentos, o nível máximo de metanol não deve exceder 150 ppm (*Code of Federal Regulations* §573.640). No Brasil, as partidas de glicerina bruta fornecidas para experimentos com frangos de corte têm apresentado níveis de 140 a 150 ppm de metanol. A intoxicação por metanol em animais é identificada pela excreção de ácido fórmico na urina. O metanol ingerido é oxidado no fígado a formaldeído e este a ácido fórmico. O ácido fórmico é a substância tóxica.

É importante salientar a diferença entre glicerina bruta e glicerol: glicerol é o composto puro, ou seja 1,2,3-propanotriol; já a glicerina bruta são os outros produtos comerciais que contenham mais de 95% de glicerol em sua composição (FELIZARDO et al, 2006). As glicerinas se diferenciam quanto ao grau de processamento na indústria - na forma bruta contem alto teor de ácidos graxos, e na forma semi-purificada, baixo teor de ácidos graxos (PEGORARO et al, 2012).

O glicerol é um composto estrutural importante dos triacilgliceróis e fosfolipídios por ser precursor para gliceraldeído-3-fosfato, fornecer energia através da via glicossídica e do ciclo do ácido cítrico, por poder ser convertido em glicose pelo fígado e rins e ainda fornecer energia para o metabolismo celular. É um componente do metabolismo normal dos animais, sendo encontrado na circulação e nas células. Deriva-se da lipólise no tecido adiposo, hidrólise dos triglicerídeos das lipoproteínas do sangue e da gordura dietética. O glicerol absorvido pelo epitélio ruminal, será convertido à glicose no fígado e a enzima

glicerol quinase converte glicerol e ATP em glicerol-3-fosfato e ADP à triose fosfato, direcionando o glicerol para a gliconeogênese (KREHBIEL, 2008).

Estudos apontam o uso de glicerina para ruminantes por ser semelhante ao propilenoglicol (substância gliconeogênica), utilizado comumente na alimentação de vacas leiteiras de alta produção para atenuar os efeitos do balanço energético negativo no período de transição. No rúmen o glicerol sofre fermentação e tem como principal produto o ácido propiônico - precursor dos ácidos graxos e glicose metabólica (PIMENTEL et al., 2014). Com a utilização de glicerina, a inclusão de grandes quantidades de concentrado na dieta que poderiam prejudicar o desempenho do animal, tendem a reduzir (FAVARO, 2010). O aporte energético fornecido pela glicerina bruta, e por seu perfil precursor da glicose, incrementam a produção leiteira.

2.3 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NO LEITE

O leite é um dos alimentos mais completos existentes devido aos seus valores energéticos e a sua composição físico-química, rica em nutrientes essenciais. É uma emulsão de glóbulos de gordura (com tamanhos diferenciados) e uma suspensão de micelas de caseína, cálcio e fosforo, todas suspensas em uma forma aquosa que contem substâncias solúveis de lactose, proteínas do soro do leite e alguns minerais (GONZALES, 2002).

A indústria e o consumidor estão atentos a qualidade do leite e as práticas de produção utilizadas atualmente. A lei que regulamenta os padrões de qualidade do leite é a Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2011), que estipula parâmetros para contagem de células somáticas (CCS) em 400.000 células/mL e contagem bacteriana total (CBT) em 300.000 UFC/mL. Para a composição o mínimo exigido é de 3,0% de gordura, 2,9% de Proteína e 8,4% de sólidos não gordurosos. A higiene do animal, do ordenhador e das instalações são ações necessárias para atingir esses objetivos.

Vários autores descrevem o leite de vaca com uma composição de cerca de 87% água, 3,9% gordura, 3,2% proteínas, 4,6% lactose e 0,9% de minerais e vitaminas, que variam de acordo com a raça do animal, genética, dieta, estágio da lactação, temperatura do ambiente, idade, gestação, cio, doenças (como a Mastite), intervalo entre ordenhas dentre outros inúmeros fatores (REIS, 2007). De acordo com Freedon (1996), a alimentação responde por aproximadamente 50% das variações de gordura e proteína no

leite. A proporção de cada componente do leite sofre influência da nutrição e o status metabólico da vaca no período em que se encontra.

No entanto, alguns tipos de gorduras suplementares podem alterar a composição e as características físico-químicas do leite – por exemplo, aquelas com alto teor de ácidos graxos insaturados. O leite proveniente de vacas possuem em torno de 440 ésteres de ácido graxos sendo os principais ácido palmítico e o ácido oleico (SILVA, 1997). Embora os ácidos graxos de cadeia curta e média contribuam para as variáveis qualidades específicas da gordura do leite, a maioria dos componentes secundários é representada por isômeros de ácidos graxos de cadeias longas originários do metabolismo microbiano ruminal (PALMQUIST & MATTOS, 2011).

A intenção de alterar a composição do leite, principalmente em relação à gordura destaca-se, pois o consumidor está cada vez mais exigente em relação ao consumo de determinadas gorduras saturadas, em razão de seus efeitos supostamente deletérios sobre a saúde humana (EIFERT et al., 2006).

A gordura do leite é sintetizada a partir dos ácidos graxos obtidos de diferentes fontes como a dieta, mobilização de gordura do tecido adiposo do próprio animal ou até mesmo da síntese própria através de processos bioquímicos realizados na glândula mamária (MARTINEZ, 2009). De acordo com Peres (2001), a gordura do leite é um componente abundante e muito variável, sua concentração e composição sofrem maior influência da nutrição e condições ambientais do que as demais frações e é composta, primariamente, por triglicerídeos que constituem aproximadamente 98% do total da gordura do leite.

Os ácidos graxos (AG) são lipídios naturais, que possuem número par de átomos de carbono, dividindo-se em saturados (AGS), apresentando apenas ligações simples entre carbonos ou insaturados (AGI), que apresentam uma ou mais ligações (insaturações) na cadeia carbônica, sendo estes divididos em: monoinsaturados - AGMI (uma insaturação) e poli-insaturados-AGPI (com duas ou mais insaturações) (APPOLINÁRIO et al., 2011). São constituídos por uma cadeia de hidrocarbonetos, cujo comprimento varia de quatro a 36 átomos de carbono (C), com um grupo metil (CH₃) em uma extremidade e um grupo carboxil (COOH) na outra (NELSON E COX, 2002).

Classificam-se ainda em ácidos graxos em cadeia curta, cadeia média e cadeia longa. De acordo com Martinez (2009), os de cadeia curta são aqueles sintetizados na glândula mamária. Os de cadeia média, apenas 50% é sintetizado pelo animal e o restante é fornecido por ácidos pré-existentes. Os de cadeia longa, juntamente com os outros 50%

de cadeia média chegam até a glândula mamária pela circulação sanguínea. Logo, percebe-se a importância do perfil dos ácidos graxos presentes na dieta para a síntese dos ácidos graxos presentes no leite, já que ela pode afetar o perfil dos mesmos.

Ácidos graxos como ômega-3 (Ω -3 ou n-3) e ômega-6 (Ω -6 ou n-6) denominam-se em poliinsaturados, que contem de 18 a 22 carbonos. Recebem esta designação de ômega pela posição da primeira dupla ligação, contando a partir do grupo metílico final da molécula de ácido graxo (WILEY & SONS, 1979). Os ômega 3 auxiliam na prevenção ou tratamento de uma variedade de doenças, incluindo cardiopatias, câncer, artrite, depressão, mal de Alzheimer, dentre outros. Os ômega 6 desempenham um papel importante a nível fisiológico pois participam da estrutura de membranas celulares, influenciando a viscosidade sanguínea, permeabilidade dos vasos, ação antiagregadora, pressão arterial, reação inflamatória e funções plaquetárias (MORAES & COLLA, 2006).

Outro elemento que vem sendo estudado com bastante frequência é o CLA (Ácido Linoleico Conjugado), que é produzido no rúmen, pela fermentação microbiana da *Butyrovibrio fibrisolvens*, através da isomerização do ácido linoleico (JENKINS et al., 2008). O CLA tem propriedades bioativas distintas (anticarcinogênicas, hipocolesterolêmica, combate a obesidade e participa na modulação do sistema imune). Sua origem vem da biohidrogenação dos ácidos linoleico e linolênico no rúmen (HOLANDA et al., 2011). Possui duas duplas ligações separadas por apenas uma ligação simples (insaturação conjugada). Os dois principais isômeros de CLA, cis-9, trans-11 e trans-10, cis-12, são naturalmente encontrados em produtos lácteos e carnes de ruminantes, com cis-9, trans-11 CLA, sendo o isômero mais abundante (aproximadamente 75 a 90% de cis-9, trans-11 CLA, 10 a 25% de trans-10, cis-12 CLA) (KIM et al., 2009).

Existe variação nos níveis de CLA, especialmente no leite, que associam-se a fatores animais como espécie, raça, idade, estágio de lactação e também a fatores relacionados à alimentação como incorporação de CLA, composição de ácidos graxos, variação sazonal e tipo de alimentação (TSIPLAKOU et al., 2006). Os leites de espécies ruminantes, apresentam maior concentração de CLA, devido a capacidade desses animais em converter ácidos graxos insaturados em CLA (COLLOMB et al., 2006). No leite, o conteúdo de CLA pode ser modificado pela manipulação da alimentação dos animais lactantes. A suplementação também acarreta maiores teores de CLA, pelas rações com óleo ou sementes oleaginosas ricas em AL e α -linolênico, como linhaça (GONTHIER et al., 2005), girassol (CASTRO et al., 2009), canola (COLLOMB et al., 2004) e soja (SECCHIARI et al., 2003) ou ainda de óleo de peixe (JONES et al., 2005).

Os produtos lácteos são constituídos por lipídios e os consumidores questionam a proporção de ácidos graxos saturados (AGS). O teor e perfil de ácidos graxos (AG) do leite e seus derivados podem ser alterados por meio da dieta fornecida aos animais, tornando-os mais saudáveis nutricionalmente, como por exemplo, reduzindo os AGS e aumentando os ácidos AG poli-insaturados (AGPI) (BARROS, 2011). O consumo excessivo e descontrolado de AGS pode alterar os níveis de colesterol sanguíneo, que está diretamente relacionado com a incidência de doenças cardiovasculares na população humana (ULBRICHTH E SOUTHGATE, 1991).

3 ARTIGO

PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NO LEITE DE VACAS HOLANDEASAS MANTIDAS EM SISTEMA PASTORIL SUPLEMENTADAS COM GLICERINA BRUTA

Resumo

Avaliou-se 18 vacas holandesas, mantidas em sistema pastoril em piquetes rotacionados de azevém, suplementadas duas vezes ao dia (pela manhã depois da ordenha e a tarde antes da ordenha) com silagem de milho, concentrado comercial e glicerina bruta. Os animais foram dispostos em dois grupos, recebendo: 1) Dieta basal sem adição de glicerina bruta, 2) Dieta basal com adição de 10% de glicerina bruta na MS total. A pesquisa experimental totalizou 56 dias, divididos em quatro períodos de 14 dias, sendo o primeiro apenas de uniformização da dieta e os três posteriores efetivos, em delineamento de reversão simples. O objetivo foi avaliar a inclusão de glicerina bruta na dieta desses animais sobre a qualidade do leite e o perfil de ácidos graxos, bem como suas interações. Os dados foram submetidos à análise de variância e o efeito de tratamento comparado pelo teste T através do programa estatístico SAS. Verificou-se que a inclusão de GB não afeta a produção e a composição do leite. O somatório de ácidos graxos saturados (\sum AGS) e os ácidos caprílico, cáprico e láurico obtiveram significância ($P < 0,05$) em relação ao grupo controle, aumentando seus valores com a inclusão de glicerina bruta na dieta. Dos ácidos monoinsaturados, o oleico foi o que apresentou significância ($P < 0,05$), aumentando os valores quando a glicerina não foi instituída na dieta (grupo controle), assim como o somatório dos ácidos graxos monoinsaturados (\sum AGMI). Os ácidos graxos poliinsaturados não diferiram entre os tratamentos ($P > 0,05$). Conclui-se que a adição de glicerina bruta na dieta de vacas leiteiras não afeta a produção de leite ou a qualidade do mesmo, tornando-se uma boa opção de suplementação energética. De forma contrária, para os ácidos graxos saturados houve aumento na adição de glicerina.

Palavras- chave: BOVINOS. LÍPIDEOS. NUTRIÇÃO.

Introdução

Os bovinos leiteiros no período de inverno na região sul do Brasil, tem sua dieta baseada na utilização de plantas forrageiras cultivadas (MITTELMENN et al., 2014), onde o azevém (*Lolium multiflorum lam.*) destaca-se como forragem que possui uma alta concentração de proteína bruta (CONFORTIN et al, 2009). Busca-se com a

suplementação de glicerina bruta aumentar a energia na dieta de ruminantes, tentando minimizar os efeitos do balanço energético negativo, distúrbios metabólicos, problemas reprodutivos e incremento na produção de leite.

O leite é um dos alimentos mais completos existentes devido aos seus valores energéticos e a sua composição físico-química rica em nutrientes essenciais. De acordo com vários autores o leite de vaca tem em sua composição cerca de 87% de água, 3,9% de gordura, 3,2% de proteínas, 4,6% de lactose, e 0,9% de minerais e vitaminas. Estes parâmetros podem variar de acordo com a raça do animal, genética, dieta, estágio da lactação, temperatura do ambiente, idade, gestação, cio, doenças (como a Mastite), intervalo entre ordenhas dentre outros inúmeros fatores (REIS, 2007). Segundo Freedon (1996), a alimentação responde por aproximadamente 50% das variações de gordura e proteína no leite. A proporção de cada componente do leite sofre influência da nutrição e o status metabólico da vaca no período em que se encontra.

Pesquisas vem sendo realizadas com o intuito de alterar a composição da gordura do leite, para torná-la mais adequada ao consumo humano (GAMA et al., 2008; Lopes et al., 2009). Com o maior acesso à informação sobre o papel dos alimentos na saúde, o conceito de qualidade tornou-se mais abrangente. Para tanto, busca-se reduzir os níveis de alguns ácidos graxos no leite prevenindo as doenças cardiovasculares, por exemplo, os ácidos graxos saturados de cadeia média, como láurico (C12:0), mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0), e o aumento da concentração do ácido oleico (C18:1 cis-9) no leite (DEWHURSt et al., 2006). Também objetiva-se aumentar a concentração do ácido vaccênico (C18:1 trans-11), que é o precursor do CLA (C18:2 cis-9, trans- 11) na síntese endógena da glândula mamária (GRIINARI et al., 2000).

Além de ser um subproduto da produção de biodiesel (neste caso, de matéria prima 100% soja), a glicerina bruta possui em sua composição altos teores de ácidos graxos, e seu uso na alimentação animal surge como uma maneira de otimizar a eficiência biológica e econômica desta produção (ZACARONI, 2010), já que ganha cada vez mais dimensão frente a sanção da Lei nº 613/2015 (BRASIL, 2015), que eleva ainda mais o percentual de mistura de biodiesel ao diesel vendido ao consumidor, passando para 8%, a partir de abril de 2017. A proposta estabelece ainda que para os próximos dois anos haja um incremento de 9% e 10%.

Assim, objetivou-se com este estudo verificar se a inclusão de glicerina bruta na dieta de vacas holandesas mantidas em pastejo de azevém altera ou não a composição e o perfil de ácidos graxos do leite.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Instituto Regional de Desenvolvimento Rural (IRDeR) da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ), localizado no município de Augusto Pestana no estado do Rio Grande do Sul, Latitude 28° 31' 01" Sul e Longitude 53° 59' 31" Oeste, no período de Julho a Agosto de 2015. Seguindo as diretrizes recomendadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais (desta Universidade) através do protocolo de pesquisa n.09/2014, parecer: 019/2014.

Dezoito vacas da raça holandesa em lactação (600 ± 50 kg de peso corporal) foram divididas aos pares conforme os dias em lactação (de 60 a 120 dias, 121 a 200 dias e 201 a 320 dias) e por produção individual de leite similar, entre os tratamentos: 1) Dieta basal sem adição de glicerina bruta, 2) Dieta basal com adição de 10% de glicerina bruta na Matéria Seca (MS).

No início do período de adaptação todos os animais foram avaliados, sendo que apenas animais sadios ao exame clínico e ginecológico foram incluídos no experimento. O período experimental teve duração de 56 dias, dividido em quatro períodos de 14 dias, sendo que, no primeiro período experimental todas as vacas receberam a mesma dieta para padronização (silagem, ração, pastagem de azevém). Posteriormente, foi atribuído aleatoriamente às vacas em pares, dentro de cada bloco, em uma sequência de três experimentos, durante 14 dias cada um, em delineamento de reversão simples (Cross-over).

As vacas foram mantidas em pastagem de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.), cultivar Bar HQ®, tetraploide, sob pastejo rotacionado, em um único rebanho na área experimental, manejadas de forma a proporcionar uma oferta mínima de matéria seca de 25 kg/animal/dia. A área total de pastagem (20 ha) foi dividida em 11 piquetes com tamanho médio de 1,8 ha. Os animais permaneciam em média dois dias e duas noites em cada piquete, cada piquete ficava em descanso em média 20 dias. Em relação à adubação na base foram aplicados 200 kg ha⁻¹ (5-20-20) 40 kg de P₂O₅ e K₂O e 77,5 kg de N, parcelados em 4 aplicações, sendo 10 kg/há na base e os demais divididos em 3 aplicações e em cobertura 150 kg ha⁻¹ de ureia, em três aplicações, distribuídas ao longo do período experimental.

As vacas de cada tratamento foram submetidas às mesmas condições de manejo e alimentação, pastejo em azevém no intervalo entre ordenhas e oferta de concentrado (conforme produção de leite) mais oferta de 10 kg de silagem de milho dia⁻¹ no cocho,

diferindo apenas entre os tratamentos a inclusão de 10% ou não de glicerina bruta na MS total da dieta. Todos os animais foram pesados, em balança, no início de cada período experimental, para determinar o consumo de glicerina bruta diária, com base em 3% de consumo de matéria seca mediante o peso vivo.

O concentrado utilizado foi comercial peletizado com 17% de proteína bruta, que detinha na sua composição básica farelo de soja, como fonte proteica, milho moído e farelo de arroz como fonte de alimentos energéticos. A quantidade de concentrado fornecido para cada animal foi alterada sempre que necessário na razão de 1kg de concentrado para cada 5 litros de leite produzidos por vaca dia. Os animais foram ordenhados mecanicamente duas vezes ao dia, às 7h e 16h, e receberam o alimento concentrado e conservado individualmente, logo após a ordenha no período da manhã e antes da ordenha no período da tarde. Durante o tempo restante, os animais permaneceram nas áreas de pastagens, com livre acesso à água potável e acesso à sombra.

A glicerina bruta possuía consistência líquida, de textura oleosa e coloração amarelo escura, tendo como matéria prima 100% grãos de soja (Tabela 1), comercializada pela empresa Três Tentos Agroindustrial S/A de Ijuí-RS. As análises de ácidos graxos do produto foram realizadas no Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (Nidal/UFSM).

Tabela 1 - Composição química da glicerina bruta¹ e proporção de ácidos graxos².

Componente	Glicerina
Metanol (% máximo)	1
Glicerol (% mínimo)	80
Água (% mínima)	15
MO (% mínima)	5
Cinzas (% mínimo)	7
NaCl (% mínimo)	7
Ácidos Graxos	
Saturados	39,96
Monoinsaturados	16,00
Poliinsaturados	44,03

Fonte: ¹ Fornecida pela Três Tentos Agroindustrial; ² Núcleo (NIDAL)

As coletas de amostra da forragem foram realizadas na entrada de cada piquete durante o período de experimento, sendo realizada posteriormente uma amostra composta por período. O material verde foi seco em estufa com circulação forçada de ar (55°C) até

peso constante, moído (peneira de um mm) e armazenado para posterior análise. Os teores de matéria seca (MS) das amostras de alimentos foram determinados por secagem em estufa a 105°C até peso constante. O conteúdo de cinzas foi determinado por combustão a 600°C durante 4 horas e a matéria orgânica (MO) por diferença de massa. O nitrogênio total (N) das amostras de alimentos foi determinado pelo método Kjeldahl (MÉTODO 984.13; AOAC, 1997) e determinada proteína bruta (PB) e fibra bruta (FB). A análise de fibra em detergente neutro (FDN) foi baseada nos procedimentos descritos por Mertens (2002) com uso de α -amilase termoestável, exceto que as amostras foram pesadas dentro de sacos filtro de poliéster (porosidade de 16 μ m) e tratadas com detergente neutro em autoclave a 110°C por 40 minutos (SENGER et al., 2008). As concentrações de fibra em detergente ácido (FDA) foram analisadas de acordo com o Método 973.18 da AOAC (1997), exceto que as amostras foram pesadas dentro de sacos filtro de poliéster (porosidade de 16 μ m) e tratadas com detergente ácido em autoclave a 110°C por 40 minutos (SENGER et al., 2008). Os teores de extrato etéreo (EE) foram obtidos por extração com éter etílico em um sistema de refluxo a 180°C durante 2 horas. As análises foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da Universidade do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ) e estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2- Resultados das análises bromatológicas dos três períodos experimentais, para pastagem de azevém, silagem de milho e concentrado.

Período	Itens	Alimentos		
		Pastagem de Azevém	Silagem de Milho	Concentrado
1	MS%	9.24	23.43	83.50
	MM% na MS	15.54	4.62	10.83
	MO% na MS	84.46	95.38	89.17
	PB% na MS	31.81	7.49	17.05
	FDN% na MS	50.87	59.98	-
	FDA% na MS	43.93	51.84	-
	EE% na MS	5.45	4.21	4.16
2	MS%	13.70	23.43	83.50
	MM% na MS	13.25	4.62	10.83
	MO% na MS	86.75	95.38	89.17
	PB% na MS	21.95	7.49	17.05
	FDN% na MS	58.45	59.98	-
	FDA% na MS	38.51	51.84	-
	EE% na MS	3.46	4.21	4.16
3	MS%	10.27	23.43	83.50
	MM% na MS	14.34	4.62	-
	MO% na MS	85.66	95.38	89.17
	PB% na MS	28.88	7.49	17.05
	FDN% na MS	54.00	59.98	-

FDA% na MS	43.28	51.84	-
EE% na MS	3.83	4.21	4.16

*MS= matéria seca, MM= matéria mineral, MO=matéria orgânica, PB=Proteína Bruta, FDN=Fibra em detergente neutro, FDA= Fibra em detergente ácido, EE=Extrato Etéreo.

Analisou-se a dieta referente a cada período experimental com e sem glicerina bruta (Tabela 3), de acordo com o programa de balanceamento de dietas no AMTS.

Tabela 3 - Resultados das análises para composição nutricional da dieta dos períodos experimentais (% MS).

Período	Itens	Dieta	
		Com Glicerina bruta	Sem Glicerina bruta
1	MS%	18.40	17.00
	CNF	35.70	29.40
	CHO F	43.70	41.70
	PB	20.44	22.71
	FDN	18.10	20.50
	EE	4.60	5.10
2	MS%	24.80	23.00
	CNF	35.70	29.40
	CHO F	45.50	43.70
	PB	16.56	18.41
	FDN	19.90	22.60
	EE	3.80	4.20
3	MS%	20.00	18.50
	CNF	35.70	29.40
	CHO F	44.40	42.50
	PB	19.28	21.43
	FDN	18.80	21.30
	EE	4.00	4.40

*MS= matéria seca, CNF= carboidratos não fibrosos, CHO Fem.= carboidratos fermentáveis, PB=Proteína Bruta, FDN=Fibra em detergente neutro, EE=Extrato Etéreo.

A produção de leite (litros dia) foi obtida da média da produção dos últimos seis dias de cada período experimental, através da mensuração da produção das ordenhas da manhã e tarde. A produção de leite foi corrigida para 4% de gordura, conforme a fórmula: $[(0,4) \times (\text{produção de leite}) + 15 (\text{produção de leite} \times \% \text{gordura}/100)]$ (NRC, 2001).

Dois dias ao final de cada período experimental, uma alíquota (40mL) de leite de cada animal de ambas as ordenhas (60% da manhã e 40% da tarde) foi coletada e acondicionada em frasco contendo conservante Bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol). Os frascos com as amostras foram identificados com o número do animal e enviados ao Laboratório da Universidade de Passo Fundo (UPF), Serviço de Análise de Rebanhos Leiteiros (SARLE), para fins de análise do nitrogênio uréico, composição do leite e contagem de células somáticas. Os resultados foram compilados com base em uma

média das amostras por animal, a cada período experimental. Outra amostra de leite (100mL) de cada animal (de ambas as ordenhas (manhã e tarde)) foi coletada e acondicionada em frasco âmbar de vidro, congeladas (a -20°C), identificados com o número do animal e posteriormente enviadas ao NIDAL (Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais – UFSM), para fins de análise do perfil de ácidos graxos presentes no leite.

A extração dos lipídeos totais das amostras foi realizada segundo a metodologia de Bligh&Dyer (1959). Os ácidos graxos foram transesterificados e metilados de acordo com a técnica descrita por Christie (1982). Os ésteres metílicos dos ácidos graxos (EMAG) foram analisados usando um cromatógrafo a gás (modelo 6890, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, EUA), equipado com um detector de ionização em chama (GLC-FID) e uma coluna capilar SP-2560 (100m; 0,25mm i.d.; espessura de filme 0,20um; Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, EUA). Como gás de arraste, se utilizou nitrogênio, a uma vazão de um mL/min e, um microlitro de amostra foi injetada. As condições cromatográficas adotadas foram: injetor no modo split (razão 1:50) e as temperaturas do injetor e do detector foram 250°C. A rampa de temperatura iniciou com 60°C por um minuto, aumentando 15°C/min até 170°C por 15 minutos, depois aumentando 3°C/min até 185°C por 6 minutos, após elevado 6°C/min até 210°C por 10 minutos e então 10°C/min até 240°C, sendo esta temperatura mantida por 8 minutos. A identificação dos ácidos graxos foi baseada na comparação dos tempos de retenção da amostra com o de ésteres metílicos de padrões, contendo os isômeros geométricos do ácido linoleico conjugado (CLA: c9t11 e CLA: t10c12), do ácido graxo vacênico (ácido graxo trans 18:1) e uma mistura de 37 ésteres metílicos de ácidos graxos (189-19 e O-5626, Sigma, EUA) e expressos em g/100g de ácidos graxos identificados. Foi analisada também a composição de ácidos graxos da dieta ofertada conforme Tabela 4.

Tabela 4 - Perfil de ácidos graxos (%) presentes da dieta fornecida aos animais durante os períodos experimentais.

	Alimento					
	Azevém			Silagem		
	1	2	3	1	2	3
AG Saturados	21,29	20,48	17,88	30,25	29,80	30,27
AG Monoinsaturados	1,99	1,96	1,68	13,23	13,76	12,18
AG Poliinsaturados	76,70	77,53	80,42	56,51	56,44	46,62

AG= ácidos graxos.

A qualidade nutricional da fração lipídica foi avaliada por índices a partir dos dados de composição em ácidos graxos, através dos seguintes cálculos: índice de aterogenicidade (IA) = $[(C12:0) + (4 \times C14:0) + (C16:0)] / [(AGPI\ n-6 + AGPI\ n-3) + AGMI]$ sendo, C12:0, C14:0 e C16:0, respectivamente, os ácidos láurico, mirístico e palmítico; AGMI representa a soma das concentrações de todos os AG monoinsaturados; AGPI ômega 6 e ômega 3, a soma das concentrações dos AG poliinsaturados ômega 6 (C18:2 cis-9, cis-12; C18:2 cis-9, trans-12; C18:2 trans-10, cis-12; C20:2 cis-11, cis-14; C20:3 n-6; C20:4n-6) e AG poliinsaturados ômega 3 (C18:3n-3 isômeros; C18:3 cis-9, cis-12, cis-15), respectivamente, segundo O índice de trombogenicidade (IT) foi calculado a partir da equação $IT = (C14:0 + C16:0 + C18:0) / [(0,5 \times AGMI) + (0,5 \times AGPI\ n-6) + (3 \times AGPI\ n-3) + (AGPI\ n-3 / AGPI\ n-6)]$ sendo, C14:0, C16:0 e C18:0, respectivamente, os ácidos mirístico, palmítico e esteárico; AGMI representam a soma das concentrações de todos os AG monoinsaturados; AGPI ômega 6 e ômega 3, a soma das concentrações dos AG poliinsaturados ômega 6 (C18:2 cis-9, cis-12; C18:2 cis-9, trans-12; C18:2 trans-10, cis-12; C20:2 cis-11, cis-14; C20:3 n-6; C20:4n-6) e AG poliinsaturados ômega 3 (C18:3n-3 isômeros; C18:3 cis-9, cis-12, cis-15), respectivamente. Os dois índices seguem as recomendações de Ulbricht e Southgate (1991). Também foram calculados os totais dos ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e poliinsaturados (AGPI), as relações entre os ácidos graxos ômega-6 (*n*-6) e ômega-3 (*n*-3), entre os ácidos graxos vacênico (Vac) e esteárico (C18:0) e entre os ácidos graxos *trans* e ácidos graxos com 18 carbonos (C18).

Para fins de análise a inclusão de glicerina bruta foi considerada como efeito fixo e os blocos como efeito aleatório levando em conta o efeito do tratamento dentro de cada período. Para o estudo do efeito da inclusão de glicerina bruta no perfil dos ácidos graxos no leite, todas variáveis expressas em porcentagens foram transformadas pela aplicação do arcosseno da raiz quadrada de seus valores percentuais e posteriormente analisadas (MARKUS, 1973). Os resultados referentes às variáveis do perfil de ácidos graxos no leite foram analisados utilizando o procedimento MIXED do SAS 9.2 (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Os resultados de cada animal foram incorporados à média dos grupos (tratado ou não) por período. Submetidos os dados à análise de variância e o efeito de tratamento foi avaliado pelo teste de Tukey para dados pareados, os contrastes foram considerados significativos quando o valor de $P \leq 0.05$.

Resultados e discussão

A composição dos nutrientes do leite (gordura, proteína, lactose, sólidos totais e nitrogênio ureico), qualidade “higiênica” (CCS) e a produção (corrigida a 4%) não sofreram influência entre os tratamentos ($P>0.05$) (Tabela 4). Uma vez que a energia fornecida através da glicerina bruta sob o pastejo de azevém na fase vegetativa, onde os níveis de proteína bruta são elevados, causou um equilíbrio na dieta, não interferindo para a perda na qualidade e produção de leite. Os valores médios para gordura apresentam-se maiores no grupo controle, podendo ser explicado pelo fato de que na própria glicerina bruta existe uma quantidade de ácidos graxos poliinsaturados muito grande, quando esses são sintetizados no rúmen, há uma alteração na proporção de acetato:propionato, precursores da síntese de gordura no leite. Isso irá interferir na síntese de novo na glândula mamaria e assim na produção de ácidos graxos de cadeia curta.

Esse efeito foi verificado por Donkin (2009), quando testou a inclusão de glicerina bruta em diferentes níveis na dieta (5%, 10% e 15% na MS), afirmando que o glicerol é um substituto adequado para bovinos de leite já que não afeta a produção e composição do leite. Favaro (2010) utilizando 10 % de glicerina bruta na matéria seca da dieta em substituição aos grãos, verificou que a glicerina é um ingrediente em potencial, pois contém praticamente o mesmo teor de energia na matéria seca que o milho, não causando impactos sobre a produção e qualidade do leite.

Segundo a IN 62 (BRASIL, 2011), o leite cru refrigerado deve conter em sua composição teores mínimos de 3% de gordura, 2,9 % de proteína e sólidos totais com mínimo de 8,4% correspondendo este trabalho ao exigido pela legislação. A contagem de células somáticas limitada pelo MAPA é de 400.000 células /mL e 300.000 UFC de contagem bacteriana total, valores inferiores aos encontrados neste trabalho, em ambos os grupos. Explica-se pelo fato de alguns animais apresentarem CMT positivo durante o experimento, pois as condições climáticas no período foram críticas com muita chuva e umidade favorecendo o aparecimento de mastites.

A glicerina bruta era composta por no mínimo 80% de glicerol. No rúmen o glicerol é utilizado por duas rotas metabólicas: absorção da parede ruminal (RÉMOND et al., 1993) ou transformado em ácidos graxos voláteis (AGV), principalmente em propiônico, pelas bactérias ruminais (CZERKAWSKI & BRECKENRIDGE, 1972). Pela corrente sanguínea, chegam ao fígado tanto o glicerol como o propionato e lá são

transformados em glicose através da gluconeogênese. Meneses (2013) relata que o maior aporte de glicose decorrente do consumo de glicerol pode resultar em melhoria do aporte energético dos animais ou em maior produção de leite nos casos em que o potencial produtivo é limitado pela quantidade de energia disponível para o animal. Fato que não foi verificado neste trabalho, pois para a produção de leite não houve diferença entre os tratamentos ($P>0.05$).

Nota-se que os valores médios para nitrogênio ureico no leite (NUL) estão elevados para a categoria em lactação e divergem com as literaturas. TORRENT (2000) descreve que os níveis devem estar entre 12 a 18 mg dL⁻¹, para JOHNSON e YOUNG (2003); MEYER et al. (2006) entre 10 a 15 mg dL⁻¹. Já para FERGUSON et al. (1993); ARIAS e ALONSO (1997); JONKER et al. (1998); BUTLER et al. (1996) os valores são elevados quando maiores que 19 mg dL⁻¹ e estes autores relacionam altos níveis à redução na produção de leite e a perdas nos índices reprodutivos. ALMEIDA (2012) cita que a média geral da concentração deve estar entre 12 a 16 mg dL. O presente estudo mostra valores acima das médias descritas pelos autores, não estando em acordo com a literatura.

Tabela 5 - Médias por períodos e médias gerais \pm desvio padrão para composição do leite, contagem de células somáticas, nitrogênio ureico e produção de leite de vacas suplementadas com glicerina bruta a 10% da MS consumida e sem suplementação em diferentes períodos experimentais.

<i>Período</i>	Com glicerina bruta	Sem glicerina bruta	Valor de P	CV (%)
<i>Gordura (%)</i>				
<i>1</i>	3.0	2.9		
<i>2</i>	3.0	3.3		
<i>3</i>	3.2	3.3		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	3.06 \pm 0.11	3.16 \pm 0.23	0.54	18.01
<i>Proteína (%)</i>				
<i>1</i>	3.2	3.1		
<i>2</i>	3.2	3.2		
<i>3</i>	3.4	3.2		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	3.27 \pm 0.11	3.17 \pm 0.05	0.52	8.52
<i>Lactose (%)</i>				
<i>1</i>	4.48	4.62		
<i>2</i>	4.70	4.49		
<i>3</i>	4.49	4.65		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	4.56 \pm 0.12	4.59 \pm 0.08	0.83	4.15
<i>Sólidos Totais (%)</i>				
<i>1</i>	11.70	11.63		
<i>2</i>	11.90	12.12		
<i>3</i>	12.12	12.23		

<i>Média e Desvio Padrão</i>	11.91 ± 0.21	11.99 ± 0.31	0.67	6.75
<i>Contagem de Células Somáticas (cél/s mL⁻¹)</i>				
1	819	172		
2	374	799		
3	1149	561		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	781 ± 388	510 ± 316	0.36	167.05
<i>Nitrogênio Ureico no leite (NUL)</i>				
1	25	26		
2	13	15		
3	22	22		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	20 ± 6	21 ± 5	0.32	16.00
<i>Produção de leite (corrigida para 4% de gordura)</i>				
1	29	30		
2	34	30		
3	27	28		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	30 ± 3	29 ± 1	0.70	20.63

Letras iguais não diferem entre si a teste T <0.05

A composição dos lipídeos no leite relacionam-se ao rendimento na produção de lácteos e aos diferentes AG saturados e insaturados. Quanto aos ácidos saturados, os valores para butírico (C4:0), capríco (C6:0), palmítico (C16:0) e araquídico (C20:0) não apresentam variação significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 6). Já os ácidos caprílico (C8:0), capríco (C10:0) e laurico (C12:0) diferem significativamente ($P < 0,05$) no grupo tratado, assim como o agrupamento de todos ácidos saturados.

Em todos os períodos experimentais os níveis de ácidos graxos saturados foram maiores no grupo tratado. Pesquisas esperam que esses valores sejam menores, pois estes são ácidos graxos indesejáveis a saúde, por seus efeitos deletérios a atividade cardíaca. São precursores do colesterol sanguíneo de baixa densidade (LDL), ou seja, causam efeitos adversos a saúde humana (PARODI, 1999).

Com exceção do ácido palmítico e araquídico, os demais são denominados de cadeia curta. Esses ácidos de cadeia curta são sintetizados na glândula mamária. No rúmen, o glicerol (quando suplementado) é rapidamente fermentado, aumentando a produção total de ácidos graxos de cadeia curta, alterando a relação acetato:propionato (ABUGHAZALEH et al., 2010). Wang et al., (2009) descreve que suplementação com glicerol eleva a proporção molar de propionato e butirato, reduzindo a proporção de acetato. A efetividade da fibra em promover a ruminação é um aspecto que deve-se considerar na fermentação ruminal, pois estimula a ruminação, causa aumento na produção de saliva e mantém o pH em níveis favoráveis para a fermentação e produção de ácido acético, principal precursor de gordura no leite.

Segundo Baggio & Bragagnolo (2007), dentre os níveis de ácidos graxos de cadeia média avaliados é relevante a especial atenção aos ácidos graxos saturados, láurico (C12:0), mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0) que, são os ácidos considerados mais preocupantes e que elevam o colesterol ruim. Os índices de láurico neste trabalho aumentaram quando os animais foram suplementados com glicerina bruta. Este valor é indesejável para Costa et al. (2008) e Griinardi et al., (1995), pois induzem o aumento de colesterol no sangue, associando-se a doenças cardiovasculares. O ácido palmítico (C16:0), que não apresentou variação é citado como o de menor efeito ao LDL.

Por outro lado, o ácido laurico vem sendo estudado com maior frequência por sua característica de reforçar o sistema imunológico pela ativação da liberação de uma substância chamada interleucina 2, fazendo com que a medula óssea fabrique mais células de defesa. Além disso, tem poder anti-inflamatórios pela inibição da síntese local de prostaglandinas (PGE2) e interleucina 6 (substâncias pró-inflamatórias).

Tabela 6 - Perfil de ácidos graxos saturados (%) e agrupamento dos mesmos, no leite de vacas holandesas suplementas com 10% de glicerina bruta com base na MS da dieta total e sem inclusão nos diferentes períodos experimentais.

<i>Período</i>	Com glicerina Bruta	Sem glicerina Bruta	Valor de P	CV (%)
<i>Butírico C4:0</i>				
<i>1</i>	1.75	1.97		
<i>2</i>	2.91	1.73		
<i>3</i>	2.20	3.06		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	2.29 ± 0.58	2.26 ± 0.70	0.930	26.63
<i>Capróico C6:0</i>				
<i>1</i>	1.38	1.32		
<i>2</i>	2.50	1.31		
<i>3</i>	1.86	1.87		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	1.91 ± 0.56	1.50 ± 0.31	0.139	25.84
<i>Caprílico C8:0</i>				
<i>1</i>	0.94	0.81		
<i>2</i>	1.45	0.90		
<i>3</i>	1.27	1.06		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	1.22^a ± 0.25	0.93^b ± 0.12	0.013	19.20
<i>Cáprico C10:0</i>				
<i>1</i>	2.24	1.72		
<i>2</i>	2.97	2.17		
<i>3</i>	3.05	2.08		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	2.76^a ± 0.44	1.99^b ± 0.23	0.0004	16.06
<i>Láurico C12:0</i>				
<i>1</i>	2.81	2.21		
<i>2</i>	3.37	2.79		

3	3.74	2.62		
Média e Desvio Padrão	3.31^a ± 0.47	2.54^b ± 0.29	0.0001	11.92
Míristico C14:0				
1	9.90	9.26		
2	10.43	10.25		
3	11.38	9.61		
Média e Desvio Padrão	10.57 ± 0.75	9.71 ± 0.49	0.070	9.05
Palmítico C16:0				
1	24.93	24.50		
2	24.83	25.92		
3	27.23	26.64		
Média e Desvio Padrão	25.66 ± 1.35	25.69 ± 1.08	0.9585	5.24
Estearico C18:0				
1	13.44	14.52		
2	13.07	14.23		
3	11.08	12.06		
Média e Desvio Padrão	12.53 ± 1.26	13.60 ± 1.34	0.0881	8.83
Araquídico C20:0				
1	0.13	0.14		
2	0.13	0.14		
3	0.12	0.13		
Média e Desvio Padrão	0.12 ± 0.005	0.14 ± 0.06	0.3595	8.81
∑AGS				
1	60.16	58.71		
2	64.14	61.66		
3	64.90	61.34		
Média e Desvio Padrão	63.09^a±2.54	60.59^b±1.62	0.0582	-

Letras iguais não diferem entre si a teste T <0.05

Entretanto, é interessante aumentar a participação de ácidos graxos de cadeia longa, mono e poliinsaturados, na composição da gordura do leite, em virtude de seus possíveis benefícios a saúde humana. Para os índices de AGMI (Tabela 7) observados no trabalho, apenas o ácido oleico, obteve variação (P<0.05) no grupo controle, com valores acima que o suplementado, assim como o somatório de todos os ácidos graxos monoinsaturados. Ou seja, a inclusão de glicerina bruta na dieta diminuiu os valores de oleico, um ácido graxo monoinsaturado que é considerado benéfico a saúde. O somatório de todos os ácidos monoinsaturados também foi menor quando a glicerina bruta foi ofertada aos animais. Apenas 16% da glicerina bruta utilizada era composta por AGMI (sendo 13,38% desse total, oleico).

Demeyer & Doreau (1999), relatam que o aumento de ácidos graxos de cadeia longa (monoinsaturado ou poliinsaturado) na composição do leite (gordura) possibilitam

a redução de doenças coronárias, em virtude do aumento do índice HDL (*Lipoproteína de alta densidade*, conhecida como “bom colesterol”).

Já o ácido vacênico (C18:1n11t), mesmo sem diferença estatística, obteve valores maiores quando a glicerina foi instituída na dieta. Para Paschoal et al., (2007) esse aumento é benéfico, pois os tecidos podem sintetizar CLA (cis9, trans11) a partir do transvacênico pela ação da enzima delta-9 dessaturase. Corl et al., (2000) refere-se a delta-9 dessaturase como responsável pela produção de 65% do isômero de CLA cis9, trans11 na gordura do leite. Observa-se neste trabalho, que a inclusão de glicerina bruta na dieta de vacas leiteiras aumenta a concentração de CLA, na média geral, se comparada ao controle.

Tabela 7 - Perfil de ácidos graxos monoinsaturados (%) e agrupamento dos mesmos, no leite de vacas holandesas suplementas a 10% de glicerina bruta com base na MS da dieta total e sem suplementação nos diferentes períodos experimentais.

Período	Com glicerina bruta	Sem glicerina bruta	Valor de P	CV (%)
<i>Miristoleico (C14:1n5)</i>				
1	0.92	0.90		
2	0.79	0.85		
3	0.78	0.71		
Média e Desvio Padrão	0,83 ± 0,07	0,82 ± 0,09	0.4814	20.29
<i>Palmitoleico (C16:1n7)</i>				
1	1.33	1.36		
2	1.30	1.27		
3	1.23	1.58		
Média e Desvio Padrão	1.29 ± 0.04	1.40 ± 0.15	0.7130	14.27
<i>Elaídico (C18:1n9t)</i>				
1	0.29	0.26		
2	0.25	0.29		
3	0.28	0.24		
Média e Desvio Padrão	0.28 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.4780	12.80
<i>Vacênico (C18:1n11t)</i>				
1	4.37	3.96		
2	3.38	3.99		
3	4.77	4.12		
Média e Desvio Padrão	4.17 ± 0.71	4.03 ± 0.08	0.5818	11.41
<i>Oleico (C18:1n9c)</i>				
1	26.56	29.07		
2	24.63	26.31		
3	22.07	26.06		
Média e Desvio Padrão	24.42^b ± 2.25	27.15^a ± 1.67	0.0255	8.22
Σ AGMI				
1	34.65	36.51		

2	31.28	33.71		
3	30.04	33.63		
Média e desvio padrão	31.99^b±2.38	34.62^a±1.64	0.0269	-

Letras iguais não diferem entre si a teste T ≤0.05

Estudos experimentais revelaram que o CLA (C18:2 cis-9, trans-11), é um potente agente anticarcinogênico, contribuindo para a reavaliação dos produtos originados dos ruminantes, já que o leite e seus derivados são as mais ricas fontes naturais desse ácido graxo (ELGERSMA et al., 2006). Neste trabalho não houve diferença significativa entre os tratamentos para AGPI (Tabela 8).

Os ácidos linoleico (C18:2n6c) e alfa linoleico (C18:3n3) aumentaram no grupo tratado (com inclusão de glicerina bruta). Os teores de CLA 1 obtiveram médias para os grupos tratado e controle, respectivamente em 0.13 e 0.10; e C18:2t10c12 em 0.05 e 0.06. O CLA encontrado na gordura do leite e na carne de ruminantes apresenta duas origens: a biohidrogenação parcial do ácido linoleico no rúmen e a síntese endógena no tecido adiposo e na glândula mamária (sendo esta a mais importante, responsável por cerca de 80% do CLA presente no leite (MARTINEZ, 2009).

Na composição da glicerina bruta utilizada neste estudo, 35,93% era ácido linoleico. Na pastagem de azevém foram identificados (média dos três períodos), com predominância, ácidos palmítico (15,37%), linoleico (9,99%), alfa-linolênico (66,61%) representando 91,97% do total. Na silagem de milho identificou-se com maior representatividade os ácidos palmítico (22,09%), esteárico (5,64%), oleico (12,63%), linoleico (33,28%) e alfa-linolênico (19,02%), contribuindo em mais de 92,66% do total. Moate et al. (2007) explicam que animais alimentados em pastejo possuem maiores concentrações média de AG trans 18:1, incluindo os trans-10 18:1, bem como de C18:2c9t11 e C18:2t10c12, 20:0 (araquídico), e 20:5 (eicosapentaenoico).

Meneses (2013), explica que em função dos ácidos graxos poliinsaturados presentes na glicerina bruta, pode ter havido uma variação entre acetato:propionato, pela fermentação do glicerol em maiores teores de propionato no rúmen. Piperova et al. (2000), descreve que os AGPI da glicerina bruta inibem a ação de enzimas lipogênicas (acetil-CoA e ácido graxo sintetase), pela menor proporção de acetato no rúmen, onde essas enzimas são responsáveis pela síntese *de novo* na glândula mamaria. Beam et al., (2000) explica que teores de concentrado elevados na dieta podem interferir a biohidrogenação ruminal e aumentar a passagem de ácidos graxos poliinsaturados pelo rúmen, aumentando a absorção intestinal e a incorporação ao leite.

Quanto a forragem, Elgersma et al. (2004) expõe que existe uma variação nas fontes de lipídeos que são dadas pela espécie vegetal, estado de crescimento, temperatura e a intensidade da luz. Existem cinco principais ácidos graxos presentes na maioria das pastagens, onde cerca de 95% consiste de C18:3n3, C18:2n6 e C16:0.

Tabela 8 - Perfil de ácidos graxos poliinsaturados (%) e agrupamento dos mesmos, no leite de vacas holandesas suplementas a 10% de glicerina bruta com base na MS da dieta total e sem suplementação nos diferentes períodos experimentais.

<i>Período</i>	Com glicerina bruta	Sem Glicerina Bruta	Valor de P	CV (%)
<i>Linoleico (C18:2n6c)</i>				
<i>1</i>	2.22	1.88		
<i>2</i>	2.06	2.12		
<i>3</i>	2.07	2.14		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	2.12 ± 0.08	2.05 ± 0.14	0.4814	9.11
<i>Alfa – linolênico (C18:3n3)</i>				
<i>1</i>	2.06	1.97		
<i>2</i>	1.62	1.77		
<i>3</i>	2.43	2.10		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	2.04 ± 0.40	1.95 ± 0.16	0.4830	12.86
<i>C18:2c9t11</i>				
<i>1</i>	0.08	0.09		
<i>2</i>	0.04	0.05		
<i>3</i>	0.09	0.10		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	0.13 ± 0.04	0.10 ± 0.04	0.6760	22.08
<i>C18:2t10c12</i>				
<i>1</i>	0.05	0.05		
<i>2</i>	0.03	0.05		
<i>3</i>	0.06	0.08		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.3340	25.57
<i>Araquidônico (C20:4n6)</i>				
<i>1</i>	0.02	0.03		
<i>2</i>	0.01	0.02		
<i>3</i>	0.01	0.01		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	0.01 ± 0.007	0.02 ± 0.01	0.2625	24.67
<i>Timnodônico – EPA (C20:5n3)</i>				
<i>1</i>	0.10	0.08		
<i>2</i>	0.02	0.04		
<i>3</i>	0.04	0.01		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	0.05 ± 0.03	0.05 ± 0.03	0.1226	23.47
Σ AGPI				
<i>1</i>	5.18	4.78		
<i>2</i>	4.30	4.62		
<i>3</i>	5.25	5.03		
<i>Média e Desvio Padrão</i>	4.91±0.24	4.81±0.20	0.5643	-

Letras iguais não diferem entre si a teste T <0.05

Quanto aos índices de aterogenicidade, trombogenicidade, relações entre o ácido vacênico/C18, o total de trans/ C18, total de n3 e n6 e suas relações, observa-se na Tabela 9, que não diferem estatisticamente ($P>0.05$).

As médias gerais para os grupos tratado e controle sobre IA e IT, foram respectivamente, 1.94 - 1.84 e 2.04 - 1.91. Estes índices indicam um estímulo à agregação plaquetárias, ou seja, quanto menores os valores de IA e IT maior é a quantidade de AG anti-aterogênicos presentes em determinada gordura, tornando-a possível agente preventivo ao aparecimento de doenças coronarianas (TURAN et al., 2007). Souza Bentes et al., (2009) considera que quanto menor o valor destes índices, mais benefícios este perfil de ácidos graxos traz a saúde humana.

As médias para a relação n6:n3 obtiveram índices de 1.24 e 1.22, respectivamente no grupo tratado e controle. Para esta relação n6:n3 a Organização Mundial de Saúde, sugere valores abaixo de cinco, variando 4:1 a 1:1 de ácidos graxos n-6 para ácidos graxos n-3. O uso de glicerina bruta na dieta de bovinos leiteiros aumentou os índices da relação n3:n6, continuando dentro do recomendável para a alimentação humana.

Tabela 9 - Médias dos agrupamentos de ômega 6 e ômega 3 e suas relações; médias e desvio padrão de índice de aterogenicidade e índice de trombogenicidade de ácidos graxos no leite de vacas holandesas suplementas a 10% de glicerina bruta com base na MS da dieta total e sem suplementação nos diferentes períodos experimentais.

Período	Com glicerina bruta	Sem glicerina bruta	Valor de P
<i>VAC / C18</i>			
1	3.07	3.66	
2	3.86	3.56	
3	2.32	2.92	
Média e Desvio Padrão	3.08±0.77	3.38±0.40	0.4248
<i>Total trans / C18</i>			
1	0.39	0.33	
2	0.30	0.33	
3	0.50	0.41	
Média e Desvio Padrão	0.40±0.09	0.36±0.04	0.366
<i>IA</i>			
1	1.69	1.95	
2	1.96	1.82	
3	2.17	1.75	
Média e Desvio Padrão	1.94±0.24	1.84±0.09	0.6510
<i>IT</i>			
1	2.02	1.79	
2	2.11	2.05	
3	1.99	1.88	

<i>Média e Desvio Padrão</i>	2.04±0.06	1.91±0.12	0.110
	<i>n6</i>		
1	2.80	2.48	
2	2.49	2.64	
3	2.56	2.65	
<i>Média e Desvio Padrão</i>	2.62±0.16	2.56±0.09	0.862
	<i>n3</i>		
1	2.26	2.16	
2	1.74	1.89	
3	2.54	2.21	
<i>Média e Desvio Padrão</i>	2.18±0.40	2.09±0.17	0.571
	<i>n6:n3</i>		
1	1.23	1.14	
2	1.43	1.39	
3	1.00	1.19	
<i>Média e Desvio Padrão</i>	1.22±0.21	1.24±0.13	0.8362

Letras iguais não diferem entre si a teste T <0.05

Conclusão

A inclusão de glicerina bruta na dieta de vacas leiteiras não afeta a produção de leite ou a qualidade do mesmo, sendo uma boa opção de suplementação energética.

Para a composição de ácidos graxos, o uso da glicerina bruta afetou indesejavelmente o somatório de ácidos saturados. Os teores de CLA e os índices de ômega 6 e ômega 3, aumentam com a inclusão e suas relações estão dentro dos padrões recomendados mundialmente para benefícios a saúde humana.

Referências Bibliográficas

ARIAS, J. E ALONSO, A. N. **Importância dos níveis de nitrogênio ureico no leite e no sangue de vacas leiteiras.** Latin América Animal Science Meeting 73-84. 1997.

BAGGIO, S.R.; BRAGAGNOLO, N. Formação de óxidos de colesterol e alteração dos ácidos graxos em produtos cárneos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.1, p.10-17, 2007.

BECKER, E. G. **Suplementação com ácidos graxos de cadeia média na emissão de metano, produção e qualidade do leite em vacas lactantes.** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Zootecnia/ UFSM. Santa Maria. 90p. 2015.

BEAM, T.M.; JENKINS, T.C.; MOATE, P.J.; KOHN, R.A.; PALMQUIST, D.L. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids on ruminal contents. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.2564-2573, 2000.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry Physiology**, v.37, n.8, p.911-917, 1959.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, p. 6, Seção 1, 30 de dezembro de 2011.

BRASIL. 2015. Lei Nº 613, de 23 de Março de 2016. Dispõe sobre Dispõe sobre o percentual e prazos de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado no território nacional, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 25 de set. 2014.

BRASIL. 2016. Agência Nacional do Petróleo – ANP. Gás Natural e Biocombustíveis. Boletim eletrônico. BRASIL. 2016. **Agência Nacional do Petróleo – ANP. Gás Natural e Biocombustíveis**. Boletim eletrônico, Julho. 2016.

BUTLER, W. R.; CALAMAN, J. J. E BEAM, S. W. 1996. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science** 74:858-65.

CERUTTI, W. G. **Torta de amendoim na suplementação de vacas a pasto**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Zootecnia/ UFSM. Santa Maria. 75 p. 2013.

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

CONFORTIN, A. C. C., QUADROS, F. L. F., ROCHA, M. G., KUINCHTNER, B. C., GLIENKE, C. L., CAMARGO, D. G. E MACHADO, J. M. Fluxo de tecido foliar em azevém anual manejado sob três intensidades de pastejo. **Ciência Rural**, 39:1193-1199. 2009.

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

COSTA, R.G. et al. Características químicas e sensoriais do leite de cabras Moxotó alimentadas com silagem de maniçoba. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.4, p.694- 702, 2008.

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

DEWHURST, R.J. et al. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. **Animal Feed Science Technology**, v.131, p.168-206, 2006.

DONKIN, S. S.; KOSER, S. L.; WHITE, H. M.; DOANE, P. H. CECAVA, M. J. Feeding value of glycerol as a replacement for corn grain in rations fed to lactating dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.10, p.5111:5119. 2009.

ELGERSMA, A. et al. Influence of cultivar and cutting date on fatty acids composition of perennial ryegrass (*Lolium perenne*). **Grass and Forage Science**, v.59, p.104-105, 2004.

ELGERSMA, A; TAMMINGA, S.; ELLEN, G. Modifying milk composition through forage. **Animal seed Science and technology**, v. 131, n.3, p.207-22, 2006.

FERGUSON, J. D.; GALLIGAN D. T.; BLANCHARD T. E REEVES M. Serum urea nitrogen and conception rate: The usefulness of test information. **Journal of Dairy Science** 76:3742- 3746. 1993.

GAMA, M.A.S.; LOPES, F.C.F.; RIGUEIRA, J.C.S. et al. Perfil de ácidos grasos y estabilidad oxidativa de mantecas elaboradas con leche de vacas que reciben dietas con aceite de soja. **Tecnología Láctea Latinoamericana**,54: 56-57, 2008.

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

JOHNSON, R. G.; YOUNG, A. J. The association between milk urea nitrogen and DHI production variables in Western commercial dairy herds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, p.3008-3015, 2003.

LOPES, F.C.F.; RIBEIRO, C.G.S.; RIBEIRO, M.T. et al. Milk fatty acid profile from dairy cows fed increasing levels of soybean oil in diets based on tropical forage. In: **xith international symposium on ruminant physiology**. 11. 2009.

JONKER, J. S.; KOHN, R. A. E ERDMAN, R. A. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science** 81:2681-2692. 1998.

MARKUS, R. 1973. **Elementos da estatística aplicada**. Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Diretório Acadêmico Leopoldo Cortês, Porto Alegre.

MENESES, M. A. **Glicerina bruta em dietas de vacas leiteiras confinadas**. Dissertação de mestrado. Itapetinga-BA: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2013.

MEYER, P. M.; MACHADO, P. F.; COLDEBELLA, A. CASSOLI L. D.; COELHO K. O. E RODRIGUES P. H. M. Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio ureico no leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia** 35:1114-1121. 2006.

MERTENS, D. R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent

fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: a collaborative study. **Journal of AOAC International** 85:1217-1240.

MITTELMENN, A.; KOPP, M. M.; PILON, M.; FAE, G. S.; FONTANELLI, R. S.; BENDER, S. E. Planejamento forrageiro - cultivares Embrapa. In: **Tecnologias para produção de leite na agricultura familiar**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 17. 2014.

MOATE, P.J. et al. Milk fatty acids I: Variation in the concentration of individual fatty acids in bovine milk. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.4730–4739, 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 2001. **Nutrients requirements of the dairy cattle**. 7.ed. Washington. 2001.

PARODI, P.W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.6, p.1339-1349, 1999.

RÉMOND, B., SOUDAY, E.; JOUANY, J. P. In vitro and in vivo fermentation of glycerol by rumen microbes. **Animal Feed Science and Technology**, v.41, p.121:132. 1993.

SAS. Statistic Analysis System. User's Guide. Version 9.2. **SAS Institute**. Cary, NC. USA, 2000.

SENGER, C. C. D.; KOZLOSKI, G. V.; SANCHEZ L. M. B.; MESQUITA F. R.; ALVES T. P. E CASTAGNINO D.S. Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, 146:169-174. 2008.

SOUSA BENTES, A. et al. Caracterização física equímica e perfil lipídico de três espécies de peixes amazônicos. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.3, n.2, p.97-108, 2009.

TORRENT, J. Nitrogênio ureico no leite e qualidade do leite. p. 98. In: **Simpósio internacional sobre qualidade do leite**, Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa, Curitiba. 2000.

TURAN, H. et al. Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clavata*, L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. **Journal of Fish Science**, v.1, n.2, p.97-103, 2007.

ZACARONI, O. F. **Respostas de vacas leiteiras à substituição de milho por glicerina bruta**. Lavras, MG: Universidade Federal de Lavras, 2010. 43p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, 2010.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANP. **Biodiesel - Introdução.** Disponível em: www.anp.gov.br/biocombustiveis/biodiesel acesso em 15 de Dezembro de 2016

APPOLINÁRIO, P.P.; DEROGIS, P.B.M.C.; YAMAGUTI, T.H. et al. Metabolismo, oxidação e implicações biológicas do ácido docosahexaenoico em doenças neurodegenerativas. *Química Nova*, v.34, n.8, p.1-8, 2011.

ARIAS, J. E ALONSO, A. N. Importância dos níveis de nitrogênio ureico no leite e no sangue de vacas leiteiras. **Latin América Animal Science Meeting** 73-84. 1997.

BAGGIO, S.R.; BRAGAGNOLO, N. Formação de óxidos de colesterol e alteração dos ácidos graxos em produtos cárneos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.1, p.10-17, 2007.

BEAM, T.M.; JENKINS, T.C.; MOATE, P.J.; KOHN, R.A.; PALMQUIST, D.L. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids on ruminal contents. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.2564-2573, 2000.

BECKER, E. G. **Suplementação com ácidos graxos de cadeia média na emissão de metano, produção e qualidade do leite em vacas lactantes.** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Zootecnia/ UFSM. Santa Maria. 90p. 2015.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry Physiology**, v.37, n.8, p.911-917, 1959.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, p. 6, Seção 1, 30 de dezembro de 2011.

BRASIL. 2015. Lei Nº 613, de 23 de Março de 2016. Dispõe sobre a percentual e prazos de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado no território nacional, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 25 de set. 2014. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2014/Lei/L13033.htm. Acesso em: 15 de dezembro de 2016.

BRASIL. 2016. Agência Nacional do Petróleo – ANP. Gás Natural e Biocombustíveis. Boletim eletrônico. BRASIL. 2016. Agência Nacional do Petróleo – ANP. Gás Natural e Biocombustíveis. Boletim eletrônico, Julho. 2016. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/wwwanp/publicacoes/boletins-anp/2386-boletim-mensal-dobiodiesel>. Acesso em: 30 de novembro de 2016.

BRANCO, A.F. et al. Avaliação técnico-econômica da suplementação de vacas leiteiras em pastagem. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2002, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM/CCA/DZO-NUPEL, 2002. p.123-142.

BARROS, M.C.C. **Glicerina bruta na dieta de ovinos confinados: Consumo, digestibilidade, desempenho, medidas morfométricas da carcaça e características da carne.** Tese (Doutorado) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga – BA, 2012.

CASTRO, T. et al. Effects of dietary sources of vegetable fats on performance of dairy ewes and conjugated linoleic acid (CLA) in milk. **Small Ruminant Research**, v. 84, n. 1-3, p. 47-53, 2009

CERUTTI, W. G. **Torta de amendoim na suplementação de vacas a pasto.** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Zootecnia/ UFSM. Santa Maria. 75 p. 2013.

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

COLLOMB, M.; SIEBER, R.; BÜTIKOFER, U. CLA isomers in milk fat from cows fed diets with high levels of unsaturated fatty acids. **Lipids**, v.39, n.4, p.355-364, 2004.

CUNHA, C. M.; FERNANDES, A. R. M.; RICARDO, H. A.; CORNÉLIO, T. C.; ALVES, L. G. C. Glicerina Bruta na alimentação de ruminantes. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer – Goiania. V.10, n. 18, p. 1872-1888. 2014.

DASARI, M. Crude glycerol potencial described. **Feedstuffs**, Minnetonka, v.4, p.16-19. 2007.

DONKIN, S. S.; KOSER, S. L.; WHITE, H. M.; DOANE, P. H.; CECAVA, M. J. Feeding value of glycerol as a replacement for corn grain in rations fed to lactating dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Madison, v. 92, n. 10, p. 5111-5119, 2009.

EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LANNA, D.P.D.; LEOPOLDINO, W.M.; ARCURI, P.B.; LEÃO, M.I.; COTA, M.R.; VALADARES FILHO, S.C. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e monensina no início da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.219-228, 2006.

FÁVARO, V. R. **Utilização de glicerina, subproduto do Biodiesel, na alimentação de bovinos.** 2010. 59 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, 2010.

FELIZARDO, P.; CORREIA, M.J.N.; RAPOSO, I. et al. Production of biodiesel from waste frying oils. **Waste Management**, v.26, n.5, p.487-494, 2006.

FREEDEN, A. H. Considerations in the nutritional modification of milk composition. **Animal Feed Science and Technology**, v.59, p.185-197. 1996.

GARCIA, R. et al.. Forrageiras utilizadas no sistema integrado agricultura-pecuária. In: ZAMBOLIM, I.; SILVA, A. A. da; AGNES, E, L., (eds). **Manejo integrado? Integração agricultura-pecuária.** Viçosa-MG: UFV, p. 331-352, 2004.

GONTHIER, C. et al. Feeding micronized and extruded flaxseed to dairy cows: effects on blood parameters and milk fatty acid composition. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 2, p. 748-756, 2005.

GRIINARI, J.M.; BAUMAN, D. E.; JONES, L. R. Low Milk fat in New York holstein herds. **Pro. Nutr. Conf.** P. 96-105, 1995.

HARVATINE, K. J. & ALLEN, M. S. Effects of fatty acid supplements on milk yield and energy balance of lactating dairy cows. **Journal Dairy Science.**, 89:1081–1091, 2006.

HOLMES, C.W. Produção de leite a baixo custo em pastagens: uma análise do sistema Neozelandês. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GADO LEITEIRO, 2, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: FEALQ, 1996. p. 69-95. 1995.

IUPAC, Nomenclatura de Compostos Orgânicos, Recomendações 1993, **Publicações Científicas Blackwell**, 1993. Editado por R Panico, WH Powell e Richer JC.[ISBN 0-632-03488-2].

JENKINS, T.C.; WALLACE, R.J.; MOATE, P.J. et al. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal Animal Science**, v.86, n.2, p.397-412, 2008.

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

JONKER, J.S.; KOHN, R.A.; ERDMAM, R.A.; Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2681-2692, 1998.

KIM, Y.J.; LIU, R.H.; RYCHLIK, J.L. et al. The enrichment of a ruminal bacterium (*Megasphaera elsdenii* YJ-4) that produces the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid. **Journal of Applied Microbiology**, v.92, p.976-982, 2009.

KREHBIEL, C.R. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 392, 2008. Supplement.

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

MARTIN, T. N. Fitomorfologia e produção de cultivares de trigo duplo-proposito em diferentes manejos de corte e densidade de semeadura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.8, 2010.

MARTINEZ, J.C. O Perfil de ácidos graxos da gordura do leite é importante? Disponível em: < <http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/nutricao/o-perfil-de-acidos-graxos-da-gordura-do-leite-e-importante-53030n.aspx>> Acesso em: 22 de novembro de 2016.

MARKUS, R. **Elementos da estatística aplicada**. Porto Alegre: Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Diretório Acadêmico Leopoldo Cortês, 1973. 329p.

MATOS, L.L. Perspectivas em alimentação e manejo de vacas em lactação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 32, 1995, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1995. p.147-155

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: a collaborative study. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, v.85, p.1217-1240, 2002. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/10995536_Gravimetric_determination_of_amylase-treated_neutral_detergent_fiber_in_feeds_with_refluxing_in_beaker_or_crucibles_Collaborative_study. Acesso em: 10 de outubro de 2016.

MENTEN, J.F.M.; PEREIRA, P.W.Z.; RACANICCI, A.M.C. Avaliação da glicerina proveniente do biodiesel como ingrediente para rações de frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2008, Santos. **Anais...** Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2008. p. 66. 2008.

MORAES A. et al. Pastagens nos ecossistemas de clima subtropical: pesquisa para o desenvolvimento sustentável. IN: SIMPOSIO SOBRE PASTAGENS NOS ECOSSITEMAS BRASILEIROS, I, 1995, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 147-200, 1995.

MORAES, Fernanda P.; COLLA, Luciane M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, Legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia** Vol 3(2), 109-122, 2006. ISSN 1808-0804.

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

PIPEROVA, L. S.; TETER, B. B.; BRUCKENTAL, I.; SAMPUGNA, J.; MILLS, S. E.; et al. Mammary lipogenic enzyme activity, *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. **Journal Nutrition**, 130:2658–74, 2000.

PALMQUIST, D.L.; MATTOS, W.R.S. Metabolismo de lipídeos. In: BERCHIELLI, T.T. et al. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP. p. 299-321. 2011.

PARODI, P.W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.6, p.1339-1349, 1999.

PARSON, S.D.; ALLISON, C.D. Grazing management as et affects nutrition animal production and economics of beef production. **Veterinary Clinical of North American**, p.77-97, 1991.

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

SAS. Statistic Analysis System. User's Guide. Version 9.2. **SAS Institute.** Cary, NC. USA, 2000

SECCHIARI, P. et al. Effect of kind of dietary fat on the quality of milk fat from Italian Friesian cows. **Livestock Production Science**, v. 83, n. 1, p. 43-52, 2003.

SENGER, C. D. et al. Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology*, v.146, p.169-174, 2008. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840107005445> Acesso em: 10 de outubro de 2016.

SILVA, J.J. et al. Produção de leite de animais criados em pastos no Brasil, **Revista Veterinária e Zootecnia**, v.17, n.1, p.26-36, 2010.

SILVA, C.M.A.P. **Produção e composição do leite, variação de peso corporal e digestibilidade em vacas alimentadas com ração contendo grão de soja moída no concentrado.** Viçosa, MG: UFV, 1997, 72p. Tese (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1997.

TSIPLAKOU, E. MOUNTZOURIS, K. C.; ZERVAS, G. Concentration of conjugated linoleic acid in grazing sheep and goat milk fat. **Livestock Science**, v. 103, n. 1-2, p. 74-84, 2006.

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

VILELA, D. et al. Produção de leite de vacas holandesas em confinamento ou em pastagem de coast-cross. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.6, p.1228-1244, 1996.