



Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e monensina no início da lactação¹

Eduardo da Costa Eifert², Rogério de Paula Lana^{3*}, Dante Pazzanese Duarte Lanna^{4*}, Webel Machado Leopoldino⁵, Pedro Braga Arcuri^{6*}, Maria Ignez Leão³, Maria Rita Cota⁷, Sebastião de Campos Valadares Filho^{3*}

¹ Financiado pelo CNPq, processo 477530-01/0 (NV).

² Pós-Doc ESALQ-USP, bolsista FAPESP.

³ Departamento de Zootecnia - UFV, CEP 36571.000 Viçosa - MG.

⁴ ESALQ-USP.

⁵ UNIP - Jacareí - SP.

⁶ Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora - MG.

⁷ Zootecnista.

* Pesquisador Bolsista CNPq.

RESUMO - Avaliaram-se os efeitos da adição de monensina sódica combinada com óleo de soja na dieta de vacas lactantes sobre o perfil de ácidos graxos (AG) do leite na 5ª e 15ª semanas da lactação. Foram utilizadas 16 vacas multíparas cruzadas, dispostas em delineamento em blocos casualizados, em um arranjo fatorial 2 x 2 (presença ou não de monensina e presença ou não de óleo de soja). Os tratamentos consistiram das dietas: CT (controle) = sem monensina ou óleo; MN = 33 ppm de monensina; OL = 3,9% de óleo de soja; e OM = óleo e monensina. Os animais foram confinados e alimentados com 52% de silagem de milho e 48% de concentrado. Não foi verificada interação entre óleo de soja e monensina para os ácidos graxos avaliados. A monensina aumentou os AG insaturados, monoinsaturados e poliinsaturados em 9,0; 8,8; e 10,7%, respectivamente. O óleo apresentou maior impacto sobre os AG poliinsaturados, aumentando-os em 39,2; 39,3; e 24,2%, respectivamente. Também reduziu os AG de cadeias curta (43,7%) e média (49,1%) e aumentou os AG de cadeia longa (55,3%). Os isômeros *trans*-C_{18:1} foram aumentados tanto pelo óleo como pela monensina, indicando efeito aditivo para *trans*-10 C_{18:1}, que foi negativamente correlacionado ao teor de gordura do leite. O isômero *cis*-9 *trans*-11 do ácido linoléico conjugado (CLA) não foi influenciado pelos tratamentos, observando-se que o óleo reduziu a atividade da Δ^9 -desaturase. Houve interação entre tratamentos e semana da lactação sobre os AG de cadeias curta e média, C_{14:0}, C_{16:0}, *cis*-9 C_{18:1} e *trans*-10 C_{18:1}. Os maiores efeitos sobre o perfil de AG do leite foram registrados quando monensina e óleo foram fornecidos em conjunto na dieta de vacas lactantes.

Palavras-chave: ácidos graxos *trans*, bio-hidrogenação, CLA, ionóforos

Milk fatty acid profile of cows fed monensin and soybean oil in early lactation

ABSTRACT - The objective of this trial was to evaluate the effects of dietary monensin and soybean oil on milk fatty acid (FA) profile in the 5th and 15th week of lactation of dairy cows. Sixteen multiparous crossbred dairy cows averaging 30 days in milk were assigned to a completely randomized block design in a 2 x 2 factorial arrangement (presence or absence of monensin and soybean oil). The following diets were used: control not supplemented with monensin or soybean oil (CT), 33 ppm of monensin (MN), 3.9% of soybean oil (OL) or a combination of soybean oil plus monensin (OM). Cows were confined and fed diets with 52% of corn silage and 48% of concentrate. No significant interaction between soybean oil and monensin was observed for any measured FA. Monensin increased unsaturated, monounsaturated, and polyunsaturated FA by 9.0, 8.8 and 10.7%, respectively, while supplementation with soybean oil resulted in greater responses: 39.2, 39.3, and 24.2% for the same FA. Soybean oil also reduced short chain FA (43.7%) and medium chain FA (49.1%) and increased long chain FA (55.3%) in this study. The isomers *trans*-C_{18:1} were increased by inclusion of oil and monensin in the diet indicating an additive effect for *trans*-10 C_{18:1} that was negatively correlated with milk fat content. The CLA isomer *cis*-9 *trans*-11 C_{18:2} was not affected by treatments but soybean oil reduced Δ^9 -desaturase activity. There were interactions between treatment and week of lactation for short and medium chain FA, C_{14:0}, C_{16:0}, *cis*-9 C_{18:1} and *trans*-10. The combination of monensin and soybean oil in diet of lactating dairy cows was responsible for the most significant changes observed in the profile of milk FA.

Key Words: biohydrogenation, CLA, ionophore, lipids, *trans* fatty acids

Introdução

Não é recente a intenção de alterar a composição do leite, principalmente em relação à gordura. A perspectiva de

manipular a gordura do leite visa atender à demanda de um mercado consumidor cada vez mais exigente em relação ao consumo de determinadas gorduras saturadas, em razão de seus efeitos deletérios sobre a saúde humana.

Uma das características do leite bovino é a grande proporção de ácidos graxos (AG) saturados, com cadeias de 4 a 16 carbonos, resultantes da síntese *de novo*. Alguns destes AG são apontados como precursores do colesterol sanguíneo de baixa densidade (LDL), responsável por doenças cardiovasculares (Parodi, 1999). Entretanto, é interessante aumentar a participação de ácidos graxos de cadeia longa, mono e poliinsaturados, na composição da gordura do leite, pois estes AG possibilitam redução da incidência de doenças coronarianas, com o aumento do colesterol de alta densidade, o HDL (Demeyer & Doreau, 1999).

Extensas revisões são encontradas na literatura relatando a dificuldade da manipulação e o incremento de determinados AG no leite (Chilliard et al., 2000). Segundo Demeyer & Doreau (1999), a gordura do leite é originada a partir dos lipídios sintetizados na glândula mamária (40 a 50%) e dos ácidos graxos pré-formados absorvidos da corrente sanguínea. Aproximadamente 10% dos AG circulantes têm origem na mobilização dos lipídios corpóreos, enquanto o restante é de origem dietética. No início da lactação, a extensão do balanço energético negativo pode determinar maior secreção de AG de cadeia longa no leite (Grummer, 1991).

Existe alta correlação entre os AG do leite e os da digesta duodenal, entretanto, a correlação entre os AG dietéticos e os do leite é baixa. São três os fatores que mais modificam os AG da dieta em relação aos absorvidos no duodeno (Chilliard et al., 2000): primeiro, a população microbiana age sobre os AG insaturados, promovendo a saturação, em uma rota denominada bio-hidrogenação ruminal; segundo, a microbiota ruminal sintetiza ácidos graxos de forma similar à síntese *de novo*; finalmente, a Δ^9 -desaturase age nos enterócitos e na glândula mamária, que inclui uma ligação dupla *cis*-9 nos AG, por exemplo, transformando o ácido esteárico ($C_{18:0}$) em oléico (*cis*-9 $C_{18:1}$) e o vacênico (*trans*-11 $C_{18:1}$) em CLA *cis*-9 *trans*-11 $C_{18:2}$.

A fase da lactação, o balanço energético, o nível de alimentação, a proporção de concentrado, o pH do rúmen e a utilização de tampões e ionóforos são fatores que influenciam o perfil da gordura do leite (Palmquist et al., 1993). No entanto, a inclusão de lipídios na dieta provoca as maiores alterações na gordura do leite, que são dependentes do nível e do tipo de lipídio e da extensão da bio-hidrogenação ruminal (Grummer, 1991).

Em experimentos *in vitro*, os ionóforos têm propiciado aumentos na concentração de isômeros *trans*- $C_{18:1}$ e redução nas taxas de hidrólise dos ácidos graxos, assim como na velocidade e na extensão da bio-hidrogenação (Fellner et

al., 1997). Jenkins et al. (2003) observaram, em fermentadores contínuos, que, além de aumentar todos os isômeros *trans*- $C_{18:1}$, a combinação monensina e óleo de soja produziu efeitos aditivos em relação a *trans*-10 $C_{18:1}$.

Griinari et al. (1998) demonstraram que a bio-hidrogenação incompleta esteve associada a alterações no ambiente ruminal, provocadas por dietas com baixo teor de fibra e alto de concentrado, que incidem em aumento proporcional na concentração de *trans*-10 $C_{18:1}$, relacionada à redução no teor de gordura do leite.

São raros os trabalhos que envolvem efeitos de ionóforos e gorduras sobre o perfil de ácidos graxos do leite. Cant et al. (1997) utilizaram monensina e óleo de peixe e Johnson et al. (1988) associaram lasalocida com amendoim em grão como fonte de gordura. Em ambos os trabalhos, a proporção dos AG insaturados foi aumentada e o teor de gordura foi reduzido, enquanto o perfil dos isômeros *trans*- $C_{18:1}$ não foi avaliado.

Os autores supracitados sugeriram que a associação de monensina e óleos vegetais reduz o teor de gordura do leite, em decorrência das alterações da população microbiana provocadas pelo ionóforo, além de possibilitar aumentos na concentração CLA (Ácido Linoléico Conjugado). De modo, objetivou-se avaliar o perfil de ácidos graxos, incluindo os isômeros *trans*- $C_{18:1}$, e o conteúdo de CLA no leite de vacas alimentadas por longo período com a combinação monensina e óleo de soja na dieta.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Campo Experimental de Coronel Pacheco – EMBRAPA Gado de Leite, no período de maio a agosto de 2002. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa e no Laboratório de Nutrição e Crescimento Animal da ESALQ/USP.

Foram utilizadas 16 vacas 7/8 Holandês-Gir, múltiparas, com peso inicial de 472 ± 41 kg e $29,9 \pm 9$ dias em lactação. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em um arranjo fatorial 2×2 : que constitui na presença ou não de monensina sódica (33 ppm) e de óleo de soja (3,9%) na dieta. Os tratamentos foram compostos das dietas: CT (controle) = sem monensina ou óleo; MN = com monensina; OL = com óleo de soja; e OM = com óleo e monensina.

Os animais foram alimentados com 52% de silagem de milho e 48% de concentrado, conforme descrito na Tabela 1. As dietas foram formuladas para atender ou exceder as recomendações do NRC (2001) para vacas com produção de

Tabela 1 - Ingredientes, composição química e perfil dos ácidos graxos das dietas experimentais

Table 1 - Ingredients, chemical composition and fatty acid profile of experimental diets

Item	Dieta Diet	
	Sem óleo Without oil	Com óleo With oil
	Ingrediente (%) Ingredient (%)	
Silagem de milho <i>Corn silage</i>	52,1	51,7
Concentrado <i>Concentrate</i>	47,9	48,3
	Composição química, % Chemical composition, %	
FDN <i>NDF</i>	35,9	35,2
FDA <i>ADF</i>	21,7	21,2
Proteína bruta <i>Crude protein</i>	18,2	18,0
Extrato etéreo <i>Ether extract</i>	2,8	6,4
EL _L ¹ <i>NE_L</i>	1,594	1,733
	Ácidos graxos, g/100 g Fatty acids, g/100 g	
C _{12:0}	2,4	2,4
C _{14:0}	0,3	0,3
C _{16:0} 13,8	15,5	
C _{16:1}	0,4	0,3
C _{18:0}	2,6	2,9
C _{18:1}	20,5	20,2
C _{18:2}	46,6	50,3
C _{18:3}	2,1	3,2
Outros <i>Others</i>	12,4	9,2

¹ EL_L = Energia líquida de lactação, em Mcal/kg, NRC (2001).

¹ NE_L = Net energy for lactation, in Mcal/kg, NRC (2001).

25 kg/dia de leite com 3,5% de gordura. Os animais foram mantidos confinados, durante 84 dias, em *free-stall*, com cochos individuais regulados eletronicamente em um sistema tipo "Calan Gate" (Calan Data Ranger®), sendo alimentados e ordenhados duas vezes ao dia.

As amostras de leite para a avaliação do perfil dos ácidos graxos foram coletadas individualmente em duas ordenhas consecutivas na 5ª e 15ª semanas da lactação. Foram retiradas alíquotas compostas de 2% da ordenhas da manhã e da tarde; uma porção foi encaminhada para a análise por espectrofotometria (Laboratório de Qualidade do Leite, Embrapa Gado de Leite) e o restante, para a extração e metilação da gordura.

A extração da gordura foi realizada pelo método descrito por Nourooz-Zadeh & Appelqvist (1988). Foram transferidos

17 mL de leite (em duplicata) para um funil de separação, com acréscimo de 30 mL de isopropanol. Após agitação, foram acrescentados 22,5 mL de hexano, agitando-se o líquido por mais três minutos. A mistura foi centrifugada a 2.520 g, por 5 minutos, a 5°C. A camada superior foi transferida para outro funil de separação e a inferior, extraída mais duas vezes com 22,5 mL de hexano e esses extratos foram adicionados ao primeiro. A água foi retirada dos extratos com a adição de 15 mL de Na₂SO₄ 0,47 M. A camada de hexano foi coletada em frasco e evaporada a 50°C em evaporador rotativo com fluxo de nitrogênio contínuo. O resíduo foi dissolvido em 50 mL de clorofórmio e seco com Na₂SO₄ anidro. Aproximadamente 40 mg do resíduo foram utilizados para a formação dos ésteres metílicos, com o uso de uma solução de metóxido de sódio em metanol, conforme descrito por Christie (1982), e analisados por cromatografia gasosa.

Os ésteres metilados dos ácidos graxos foram separados em uma coluna capilar de 100 m de sílica fundida (SP-2560) com hidrogênio como gás de arraste (1,8 mL/min) e detector de ionização de chama (FID). Cada amostra foi rodada como descrito por Grinari et al. (1998), com um gradiente de temperatura de 70 a 240°C para determinação dos picos de identificação dos AG.

Após a identificação dos picos, uma manteiga padrão (CRM 164; Commission of the European Communities, Community Bureau of Reference, Brussels, Belgium) foi utilizada para a certificação da recuperação dos ácidos graxos de acordo com os picos e tempos de retenção. A concentração dos ácidos graxos foi expressa em g/100 g dos ácidos graxos totais recuperados.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com um período de avaliação de 12 semanas, em que o perfil dos ácidos graxos foi comparado em duas fases da lactação: na 5ª e 15ª semanas pós-parto. A análise estatística foi realizada utilizando-se o comando Proc GLM do programa SAS (1999). Para a comparação dos ácidos graxos em relação aos tratamentos, foram incluídos no modelo os efeitos das dietas, dos blocos e da fase. Utilizou-se a interação óleo*mon*bloco como erro 'B' para comparação dos ácidos graxos em relação à semana de lactação. Nas tabelas, os efeitos principais são reportados com os níveis de significância menores que 5%, exceto quando mencionados por algum interesse na discussão.

Resultados e Discussão

A análise cromatográfica apresentou recuperação de 97,8% dos ácidos graxos do leite amostrado, descritos nas

tabelas a seguir em g/100 g do total de ácidos graxos recuperados. Na Tabela 2 são apresentados os grupos dos principais ácidos graxos do leite e os efeitos dos tratamentos e, na Tabela 3, são detalhados estes ácidos graxos.

Não houve significância ($P > 0,20$) para a interação óleo de soja \times monensina para os ácidos graxos avaliados. A monensina não alterou a proporção dos ácidos graxos de cadeias curta (AGCC, $C_{4:0}$ - $C_{10:0}$), média (AGCM, $C_{12:0}$ - $C_{16:0}$) ou longa ($>$ que $C_{17:0}$), mas o óleo de soja reduziu em 43,7% os AGCC e em 49,1% os AGCM, conseqüentemente, aumentando em 55,3% os ácidos graxos de cadeia longa.

A redução da proporção dos AG de cadeias curta e média pode ser decorrente da diminuição de precursores da síntese *de novo*, acetato e β -hidroxibutirato, resultantes da fermentação ruminal, ou da direta inibição do complexo enzimático envolvido na síntese *de novo* pela ação dos ácidos graxos de cadeia longa dos óleos vegetais (Palmquist et al., 1993).

Ainda que o óleo de soja e a monensina tenham reduzido a proporção de acetato e de butirato nos AGV totais do líquido ruminal (Eifert et al., 2005a), parece não ter limitado a quantidade de substrato para a síntese *de novo*. Embora o óleo de soja tenha reduzido os AG de cadeia curta, este efeito foi somente de 9,3% sobre o butirato ($C_{4:0}$, Tabela 3), o que confirma a idéia de que o butirato é sintetizado de forma independente ao malonil-CoA, sendo a maioria sinte-

tizada a partir da direta incorporação do butirato do rúmen nos lipídios do leite (Chilliard et al., 2000). Além disso, os AG de cadeia média ($C_{12:0}$ a $C_{16:0}$) foram reduzidos somente pelo óleo e não foram afetados pela monensina, indicando pouca influência da alteração das proporções dos AGV sobre os ácidos graxos resultantes da síntese *de novo*. Os efeitos mais pronunciados do óleo de soja foram sobre os ácidos graxos maiores que $C_{6:0}$, indicando o efeito inibitório dos AG de cadeia longa sobre a Acetil-CoA Carboxilase na síntese *de novo*.

O óleo de soja reduziu a concentração dos AG de cadeia ímpar (Tabela 2), determinado pelo somatório de $C_{11:0}$, $C_{13:0}$, $C_{15:0}$ e $C_{17:0}$ (Tabela 3). Os ácidos graxos de cadeia ímpar são originários dos lipídios microbianos sintetizados a partir da utilização de propionato e valerato como *primers* (Mansbridge & Blake, 1997). Então, a síntese de AG de cadeia ímpar no leite reflete a síntese de AG microbiano, somada à síntese de células microbianas. Os resultados encontrados neste estudo corroboram os obtidos por Eifert et al. (2005a), que constataram que o óleo de soja inibiu a síntese microbiana. A monensina apresentou efeito somente sobre $C_{17:0}$, mas não no total de ácidos graxos de cadeia ímpar. O processo pelo qual as bactérias regulam sua composição lipídica é pouco conhecido, mas Demeyer & Doreau (1999) indicam que, em altas quantidades de lipídios dietéticos, bactérias e protozoários podem incorporar o

Tabela 2 - Resumo do perfil dos ácidos graxos do leite, em g/100 g de ácidos graxos

Table 2 - Summary of milk fatty acid profile, in g/100 g of fatty acids

Item	Média dos tratamentos ¹				EPM SEM	Efeitos (P) ²		
	CT	MN	OL	OM		Mon	Óleo	Mon*Óleo
Cadeia curta ³	10,66	10,47	8,00	6,70	0,50	ns	***	ns
Short chain								
Cadeia média ⁴	50,94	50,89	34,76	33,53	4,84	ns	***	ns
Medium chain								
Cadeia longa ⁵	36,83	36,92	56,22	58,35	1,50	ns	***	ns
Long chain								
Cadeia ímpar ⁶	3,05	3,18	2,20	2,44	0,12	0,16	***	ns
Odd chain								
Insaturados	27,91	28,85	36,78	41,64	1,37	0,06	***	ns
Unsaturated								
Saturados	72,13	71,17	63,10	58,22	1,38	0,06	***	ns
Saturated								
AGMI ⁷	25,71	26,23	33,84	38,56	1,24	0,14	***	ns
MUFA								
AGPI ⁸	2,21	2,63	2,94	3,07	0,17	0,06	***	ns
PUFA								

EPM = erro-padrão da média (SEM = standard error of mean).

¹ CT = controle (control); MN = monensina (monensin); OL = óleo de soja (soybean oil); OM = óleo + monensina (soybean oil + monensin).

² ns = não-significativo ($P > 0,20$) (not significant, $P > 0,20$); * $P < 0,05$; *** $P < 0,01$.

³ Ácidos graxos de cadeia curta (Short chain fatty acids) * C_{4} - C_{10} .

⁴ Ácidos graxos de cadeia média (Medium chain fatty acids) * C_{12} - C_{16} .

⁵ Ácidos graxos de cadeia longa (Long chain fatty acids) * C_{17} - C_{20} .

⁶ Ácidos graxos de cadeia ímpar (Odd chain fatty acids) * C_{11} , C_{13} , C_{15} , C_{17} , $C_{17:1}$.

⁷ AGMI - Ácidos graxos monoinsaturados (MUFA - monounsaturated fatty acids).

⁸ AGPI - Ácidos graxos poliinsaturados (PUFA - polyunsaturated fatty acids).

Tabela 3 - Perfil dos ácidos graxos do leite e estimativa da atividade da enzima Δ^9 desaturase, em g/100 g de ácidos graxos
 Table 3 - Milk fatty acid profile and estimative of Δ^9 desaturase activity, in g/100 g of fatty acids

Ácido graxo Fatty acid	Média dos tratamentos ¹ Mean of treatments ¹				EPM SEM	Efeitos (P) ² Effects (P)		
	CT	MN	OL	OM		Mon	Óleo	Mon*Óleo
C _{4:0}	3,35	3,49	3,29	3,04	0,17	ns	***	ns
C _{6:0}	2,46	2,40	1,79	1,45	0,13	ns	***	ns
C _{8:0}	1,37	1,35	0,91	0,69	0,09	ns	***	ns
C _{10:0}	2,85	2,86	1,81	1,37	0,21	ns	***	ns
C _{10:1}	0,30	0,25	0,14	0,11	0,02	ns	***	ns
C _{11:0}	0,12	0,12	0,06	0,05	0,01	ns	***	ns
C _{12:0}	3,28	3,26	2,07	1,71	0,22	ns	***	ns
C _{12:1}	0,24	0,22	0,13	0,11	0,02	ns	***	ns
C _{13:0}	0,13	0,12	0,08	0,09	0,02	ns	***	ns
C _{14:0}	11,10	11,43	7,90	6,91	0,49	ns	***	ns
C _{14:1} C ₉	1,52	1,53	0,89	0,86	0,11	ns	***	ns
C _{15:0}	1,68	1,70	1,16	1,17	0,11	ns	***	ns
C _{16:0}	33,00	32,64	22,54	22,67	0,80	ns	***	ns
C _{16:1} C ₉	1,56	1,73	1,02	1,41	0,12	***	***	ns
C _{17:0}	0,94	1,07	0,80	0,95	0,03	***	***	ns
C _{17:1}	0,18	0,17	0,11	0,17	0,02	ns	***	ns
C _{18:0}	11,36	10,49	20,57	18,01	1,06	0,16	***	ns
C _{18:1 total}	21,90	22,32	31,55	35,90	1,23	0,13	***	ns
C _{18:2 total}	2,02	2,43	2,71	2,87	0,17	0,13	***	ns
C _{18:2 cis-9 cis-12}	1,46	1,73	2,05	2,13	0,11	0,07	***	ns
C _{18:2 cis-9 trans-11}	0,55	0,69	0,62	0,71	0,12	ns	ns	ns
C _{18:2 trans-10 cis-12}	<0,01	0,01	0,04	0,03	0,01	ns	***	ns
C _{18:3}	0,20	0,20	0,23	0,20	0,01	ns	ns	ns
	Atividade da Δ^9 desaturase Δ^9 desaturase activity							
Δ^9 C _{18:1} C ₉ , %	62,31	63,51	57,20	60,54	1,46	ns	*	ns
Δ^9 CLA, %	42,02	38,25	34,85	34,34	2,25	ns	0,10	ns

EPM = erro-padrão da média (SEM = standard error of mean).

¹ CT = controle (control); MN = monensina (monensin); OL = óleo de soja (soybean oil); OM = óleo + monensina (soybean oil + monensin).

² ns = não-significativo (P>0,20) (not significant, P>0,20); * P<0,05; *** P<0,01.

³ [C_{18:1 cis-9}/(C_{18:0} + C_{18:1 cis-9}).

⁴ [CLA cis-9 trans-11/(cis-9 trans-11 + trans-11)].

ácido linoléico e outros AG em sua estrutura de membrana, inibindo a síntese *de novo* microbiana, o que justifica a menor proporção de ácidos de cadeia ímpar nas dietas com óleo.

Os AG insaturados do leite foram aumentados em 39,2% e os AG saturados reduzidos em 18,1% nas dietas com óleo de soja, o que reflete o perfil de AG da dieta, correspondendo a acréscimos de AG monoinsaturados (AGMI) e poliinsaturados (AGPI), respectivamente, de 39,3 e 24,2%. A monensina proporcionou aumento de 9,0% nos AG insaturados e redução de 4,5% nos AG saturados do leite, com concomitante aumento de 8,8 e 10,7% para AGMI (P=0,14) e AGPI (P=0,06). Sauer et al. (1998) observaram aumentos significativos nestes ácidos graxos com o fornecimento de monensina, sugerindo que este efeito foi ocasionado pela redução na extensão da bio-hidrogenação ruminal.

A concentração do ácido esteárico (C_{18:0}, Tabela 3) elevou na presença do óleo, possivelmente como consequência do maior consumo deste ácido graxo e da maior quantidade de AG expostos à bio-hidrogenação. Os valores

obtidos nas dietas com óleo são altos em relação às médias encontradas no leite por Chilliard et al. (2000), indicando intensa bio-hidrogenação do óleo de soja. Algumas pesquisas têm comprovado, em ensaios *in vitro* (Van Nevel & Demeyer, 1995; Fellner et al., 1997) e *in vivo* (Sauer et al., 1998), que a monensina inibe o último passo da bio-hidrogenação ruminal, diminuindo a concentração do ácido esteárico. Entretanto, neste estudo, embora tenham-se observado valores numericamente menores quando se compararam as dietas CT com MN (8,3%; 11,36 vs 10,49 g/100 g) e OL com OM (14,2%; 20,57 vs 18,01 g/100 g), o efeito da monensina sobre a concentração de C_{18:0} somente foi significativo na probabilidade de P = 0,16.

Os ácidos graxos insaturados C_{18:1}, C_{18:2} e C_{18:3} foram aumentados pelo óleo de soja, enquanto, com monensina, houve elevação das concentrações dos totais C_{18:1} e C_{18:2} somente na probabilidade de P = 0,13. Tanto óleo como monensina foram eficientes para elevar as concentrações do ácido linoléico (cis-9 cis-12 C_{18:2}) no leite, embora os valores observados sejam baixos em relação à quantidade

de óleo fornecido nas dietas. Chilliard et al. (2000) afirmam que as baixas concentrações de ácido linoléico no leite são decorrentes da baixa eficiência de secreção quando altas quantidades deste ácido são fornecidas na dieta da fase de lactação e da extensão da bio-hidrogenação ruminal. Segundo esses autores, a eficiência de transferência do ácido linoléico no terço inicial é menor que nos terços médio e final da lactação, sugerindo maior preferência de utilização pelo sistema reprodutivo e pelos tecidos de reserva que pela glândula mamária.

Embora os AG do leite e os AG absorvidos no intestino delgado estejam altamente correlacionados, é difícil quantificar a bio-hidrogenação ruminal a partir do perfil de AG do leite, pois os AG da dieta sofrem influência da atividade de desaturação nos intestinos, da seleção de específicos AG pela glândula mamária e dos efeitos dos AG circulantes em função da mobilização corporal. A bio-hidrogenação ruminal é determinada pela proporção dos ácidos oléico, linoléico e linolênico que chegam ao intestino delgado em relação à quantidade ingerida. Duckett et al. (2002) reportaram que a bio-hidrogenação é maior para o ácido linolênico (91%), intermediária para o ácido linoléico (80%) e menor para o ácido oléico (70%).

Diversos autores têm sugerido o acúmulo de *trans*-C_{18:1} no leite como característica de incompleta bio-hidrogenação dos AG no rúmen (Mansbridge & Blake, 1997). A concentração de *trans*-C_{18:1} tem sido aumentada em situações como altas quantidades de lipídios insaturados na dieta (Bateman & Jenkins, 1998), baixo pH ruminal (Kalscheur et al., 1997) e presença de ionóforos (Cant et al., 1997; Sauer et al., 1998). Segundo Bessa et al. (2000), a população microbiana é muito sensível a esses fatores e a

maior produção ruminal de isômeros *trans*-C_{18:1} nestas situações é um mecanismo de defesa da microbiota, permitindo às bactérias manter a integridade da membrana celular, uma vez que ácidos graxos *trans* são menos tóxicos que os de configuração *cis*.

A monensina não influenciou a concentração dos isômeros *cis*-C_{18:1} (Tabela 4), enquanto a adição de óleo de soja aumentou sua concentração em 46,9%, possivelmente em razão do maior consumo de ácidos graxos insaturados da dieta, embora o óleo de soja tenha diminuído a atividade da Δ^9 -desaturase, que converte o C_{18:0} em *cis*-9 C_{18:1} (Δ^9 C_{18:1} C9, Tabela 3). Individualmente, *cis*-9 C_{18:1} foi o isômero *cis*-C_{18:1} mais abundante e, enquanto a monensina aumentou somente a concentração de *cis*-12 C_{18:1}, o óleo de soja só não elevou a concentração de *cis*-15 C_{18:1}.

Tanto o óleo de soja como a monensina aumentaram a concentração dos isômeros *trans*-C_{18:1} no leite (Tabela 4). A monensina elevou a concentração dos isômeros *trans*-C_{18:1} no leite, independentemente da presença de óleo, indicando efeito aditivo do óleo de soja e da monensina. Os isômeros *trans*-9, *trans*-10, *trans*-11, *trans*-12 e *trans*-16 C_{18:1} foram aumentados tanto por óleo como por monensina, o que reforça a possibilidade de diferentes rotas de bio-hidrogenação. De acordo com Loor & Herbein (2003), *trans*-6-8 e *trans*-9 C_{18:1} são os principais intermediários durante a isomeração do ácido oléico (*cis*-9 C_{18:1}) e intermediários menores da bio-hidrogenação do ácido linolênico. Recentemente, Mosley et al. (2002) verificaram que o ácido oléico não é reduzido diretamente ao esteárico (C_{18:0}), mas parte é isomerada a *trans*-9, *trans*-10, *trans*-11 ou *trans*-12 C_{18:1} antes de sua completa saturação.

Tabela 4 - Perfil dos ácidos graxos *cis* e *trans* octadecenóicos do leite (g/100 g)

Table 4 - *Cis and trans octadecenoic acids profile of milk fat (g/100 g)*

Ácido graxo Fatty acid	Média dos tratamentos ¹ Mean of treatments ¹				EPM SEM	Efeito (P) ² Effect (P)		
	CT	MN	OL	OM		Mon	Óleo	Mon*Óleo
<i>Trans</i> - C _{18:1}	2,17	3,01	4,43	5,46	0,30	*	***	ns
<i>Cis</i> - C _{18:1}	19,73	19,32	27,11	30,44	1,16	0,13	***	ns
C _{18:1} <i>trans</i> -6-8	0,24	0,31	0,53	0,64	0,05	***	***	ns
C _{18:1} <i>trans</i> -9	0,15	0,20	0,25	0,36	0,02	*	***	ns
C _{18:1} <i>trans</i> -10	0,37	0,75	1,73	2,13	0,18	*	***	ns
C _{18:1} <i>trans</i> -11	0,95	1,17	1,09	1,36	0,21	0,07	***	ns
C _{18:1} <i>trans</i> -12	0,24	0,33	0,42	0,51	0,03	*	***	ns
C _{18:1} <i>trans</i> -16	0,22	0,26	0,43	0,46	0,02	0,08	***	ns
C _{18:1} <i>cis</i> -9	18,94	18,44	26,12	29,12	1,14	ns	***	ns
C _{18:1} <i>cis</i> -11	0,61	0,68	0,72	0,79	0,05	ns	***	ns
C _{18:1} <i>cis</i> -12	0,14	0,16	0,16	0,27	0,02	***	***	ns
C _{18:1} <i>cis</i> -13	0,02	0,01	0,02	0,07	0,01	ns	ns	ns
C _{18:1} <i>cis</i> -15	0,03	0,03	0,10	0,18	0,02	0,08	***	ns

EPM = erro-padrão da média (SEM = standard error of mean).

¹ CT = controle (*control*); MN = monensina (*monensin*); OL = óleo de soja (*soybean oil*); OM = óleo + monensina (*soybean oil + monensin*).

² ns = não-significativo (P>0,20) (*not significant, P>0,20*); * P<0,05; *** P<0,01.

A clássica rota da bio-hidrogenação ruminal do ácido linoléico envolve a formação do CLA *cis-9 trans-11 C_{18:2}* e sua redução até *trans-11 C_{18:1}* antes da completa saturação até o ácido esteárico, *C_{18:0}* (Harfoot & Hazlewood, 1997). Como consequência dessa rota metabólica microbiana, 80% do CLA encontrado no leite apresenta a configuração *cis-9 trans-11 C_{18:2}*, sendo o *trans-11 C_{18:1}* o principal isômero intermediário detectado (Bauman & Griinari, 2001). Entretanto, Griinari et al. (1998) sugerem que, dependendo do ambiente ruminal, a rota da bio-hidrogenação ruminal pode ser desviada, promovendo a formação de outros isômeros do CLA e seus *trans-C_{18:1}* correspondentes.

A concentração de *trans-11 C_{18:1}* foi aumentada pelo óleo de soja e pela monensina ($P=0,07$). Elevar a concentração deste ácido graxo é de grande importância, uma vez que este AG é o precursor da síntese endógena de CLA *cis-9 trans-11 C_{18:2}*, que apresenta propriedades anticancerígenas e outras benéficas à saúde humana (Parodi, 1999). Enquanto os tratamentos aumentaram *trans-11 C_{18:1}*, não foi verificado efeito significativo dos tratamentos sobre a concentração de CLA *cis-9 trans-11 C_{18:2}* (Tabela 3), embora as dietas MN, OL e OM tenham aumentado sua concentração em relação à dieta CT em 20,8; 24,5 e 30,2%, respectivamente.

A ausência de resposta estatística para este CLA pode ser efeito do pequeno número de animais amostrados. Apesar do coeficiente de variação de 17,14% verificado neste trabalho, Kelsey et al. (2003), com um número maior de animais, observaram variação de três vezes o conteúdo de CLA entre indivíduos e demonstraram que a base para a variação individual está mais relacionada à passagem pelo rúmen de CLA *cis-9 trans-11 C_{18:2}* e de *trans-11 C_{18:1}* e à atividade da Δ^9 -desaturase que a fase de lactação ou o grupo genético dos animais.

Estudos indicam que a principal forma de secreção do CLA *cis-9 trans-11 C_{18:2}* no leite é a partir da atividade enzimática da Δ^9 -desaturase sobre o *trans-11 C_{18:1}* (Corl et al., 2001). Neste estudo, estimou-se a atividade desta enzima a partir da relação produto/precursor (CLA *cis-9 trans-11 C_{18:2}*/[CLA *cis-9 trans-11 C_{18:2}*+ *trans-11 C_{18:1}*]), na qual o menor valor indica inibição. O óleo de soja inibiu a atividade desta enzima (Δ^9 CLA, Tabela 3), o que pode ser interpretado de duas formas: os valores similares da Δ^9 CLA e maiores valores de *trans-11 C_{18:1}* no leite nas dietas MN em relação à CT indicam que a maior parte do CLA secretado no leite na dieta MN tem origem na Δ^9 -desaturase. Entretanto, a maior concentração de *trans-11 C_{18:1}* e a menor atividade enzimática nas dietas OL e OM sugerem que grande parte do CLA secretado no leite não foi de

origem endógena, mas proveniente do CLA *cis-9 trans-11 C_{18:2}* gerado no rúmen.

O consumo de AG *trans-C_{18:1}* tem promovido redução de HDL e aumento da concentração plasmática de colesterol e LDL e incidência de doenças coronarianas. Portanto, o aumento dos isômeros *trans-C_{18:1}* obtido com os tratamentos poderia indicar menor qualidade do leite para a saúde humana. No entanto, segundo Lock & Bauman (2003), a maioria dos estudos não faz distinção entre os efeitos de diferentes isômeros *trans-C_{18:1}* e grande parte dos dados que relaciona o consumo destes AG a doenças coronarianas foi obtida com gorduras vegetais parcialmente hidrogenadas, que não proporcionam o mesmo perfil dos isômeros *trans-C_{18:1}* do leite.

Nos processos industriais de margarina, há aumento dos isômeros *trans-C_{18:1}*, que, muitas vezes, atingem 40-50% dos ácidos graxos totais, sobretudo o ácido elaidico (*trans-9 C_{18:1}*), que tem seus efeitos sobre as doenças coronarianas extrapolados para os demais isômeros *trans-C_{18:1}*. Lock & Bauman (2003) relataram evidências de que, ao contrário do consumo de gorduras hidrogenadas de origem vegetal, o consumo de *trans-11 C_{18:1}* é negativamente correlacionado ao risco de doenças coronarianas. Além disso, os autores demonstraram que a Δ^9 -desaturase também é ativa no tecido humano, de modo que o consumo de *trans-11 C_{18:1}* e o CLA *cis-9 trans-11 C_{18:2}* formado, são eficientes por reduzirem o risco de doenças coronarianas e de aterosclerose e a incidência de tumores mamários.

A concentração de *trans-10 C_{18:1}* no leite foi aumentada tanto pelo óleo de soja como pela monensina (Tabela 4). Maiores concentrações de *trans-10 C_{18:1}* estão associadas a aumentos do CLA *trans-10 cis-12 C_{18:2}* e ambos estão associados aos mecanismos que causam a síndrome do baixo teor de gordura do leite (Bauman & Griinari, 2001; Loor & Herbein, 2003). Ainda que somente as dietas com óleo tenham proporcionado aumento na concentração de CLA *trans-10 cis-12 C_{18:2}* no leite (Tabela 3), os valores são baixos em relação aos observados com o fornecimento deste CLA na forma de sais de cálcio. Dessa forma, sugere-se que a redução no teor de gordura do leite, quando se utiliza monensina na dieta, pode ser decorrente do aumento de *trans-10 C_{18:1}* e CLA *trans-10 cis-12 C_{18:2}*, e não à alteração dos produtos finais da fermentação, como freqüentemente relatado na literatura.

Griinari et al. (1998) promoveram alteração na fermentação ruminal com o uso de dietas ricas em carboidratos e baixos teores de fibra, selecionando uma população microbiana que elevou a concentração de *trans-10 C_{18:1}* no leite, refletindo redução do teor de gordura. Em cultura

contínua, Jenkins et al. (2003) observaram efeitos de óleo de soja e de monensina sobre a concentração de *trans*-10 C_{18:1} e relataram que o comportamento deste AG foi similar ao observado neste trabalho, embora tenham verificado significância para a interação tratamentos × substrato, com maior magnitude na formação de *trans*-10 C_{18:1} quando a cevada foi comparada ao milho como fonte de carboidrato.

Do ponto de vista microbiológico, as alterações nas rotas de bio-hidrogenação ruminal podem ser consequência do estímulo ou da inibição ao crescimento de determinadas espécies ou grupos de bactérias ruminais por fatores dietéticos – taxa de degradação dos carboidratos, pH ruminal, substrato preferencial – ou do uso de ionóforos.

As bactérias responsáveis pela redução ao *trans*-11 C_{18:1}, quando na rota mais freqüente da bio-hidrogenação do ácido linoléico, são *Butyrivibrio fibrisolvens* e *Ruminococcus* sp., que se comportam como gram-positivas e, portanto, sensíveis à monensina (Nagaraja et al., 1997). Conseqüentemente, a população selecionada pelo ionóforo promoveu a formação de outros isômeros *trans*-C_{18:1} e outros isômeros do CLA, justificando os resultados obtidos para os AG *trans*, sobretudo o *trans*-10 C_{18:1}. Em estudos com cepas isoladas de *Clostridium* sp., gram-positivas, Bauman & Griinari (2001) relataram a produção de *trans*-10 C_{18:1} como principal intermediário da bio-hidrogenação do ácido linoléico. *Butyrivibrio fibrisolvens* e *Ruminococcus* sp. necessitam de menor dose de monensina para controle de 50% da população que *Clostridium* sp. (Nagaraja et al., 1997). Assim, possivelmente a população de *Clostridium* sp., entre outras presentes no rúmen dos animais avaliados, não foi alterada pela monensina, justificando os aumentos em *trans*-10 C_{18:1}. Além destas, Kim et al. (2000), verificaram que *Megasphaera elsdenii*, uma espécie de bactéria que utiliza lactato e resistente à monensina, produz CLA *trans*-10 *cis*-12 C_{18:2} como principal intermediário da bio-hidrogenação do ácido linoléico, o que pode resultar em maior concentração de *trans*-10 C_{18:1}.

Ainda não foram sintetizados isômeros puros do *trans*-10 C_{18:1}, o que poderia confirmar os efeitos sobre a síntese de gordura do leite. Entretanto, infusões no abomaso de apenas 3,5 g de CLA *trans*-10 *cis*-12 C_{18:2} promovem redução de 25% no teor da gordura do leite (Baumgard et al., 2001). A magnitude da redução da gordura foi correspondente à inibição de enzimas relacionadas à síntese *de novo*, à abundância de mRNA que codifica genes envolvidos na absorção e no transporte dos AG, à atividade da Δ^9 -desaturase e à formação de triglicerídios (Baumgard et al., 2002).

A redução no teor de gordura do leite dos animais deste trabalho (Eifert et al., 2005b) refletiu em aumentos na con-

centração de *trans*-10 C_{18:1} ($r = -0,6943$; $P = 0,0001$), com efeitos mais pronunciados sobre a proporção dos AG de cadeia média ($r = -0,9279$; $P = 0,0001$) e curta ($r = -0,8823$; $P = 0,0004$), enquanto foi positivamente correlacionada aos AG de cadeia longa ($r = -0,9363$; $P = 0,0001$). Esta alteração da proporção dos AG tem importância sobre a saúde humana, pois os ácidos graxos resultantes da síntese *de novo* são correlacionados a aumentos do colesterol plasmático e a incidências de doenças coronarianas e cardiovasculares (Parodi, 1999).

Poucas diferenças nos AG foram observadas quando comparados os efeitos dos tratamentos em relação à semana de lactação dos animais. Possivelmente, a ausência de resposta entre a 5ª e 15ª semanas da lactação decorreu das taxas de ganho de peso e do balanço energético positivo dos animais (Eifert et al., 2005b), o que reduziu o efeito dos ácidos graxos resultantes da mobilização corpórea sobre o perfil da gordura do leite. Esse efeito é ilustrado na Tabela 5, com valores semelhantes para AGCM, C_{14:0}, C_{16:0}, *cis*-9 C_{18:1} nas dietas CT e MN.

Tabela 5 - Valores médios observados para os efeitos da interação tratamentos × semana da lactação sobre as concentrações de C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:1} *cis*-9 C_{18:1} e *cis*-C_{18:1} totais na gordura do leite (em g/100 g)

Table 5 - Observed mean values for treatments × lactation week interaction on milk fat concentrations of C_{14:0}, C_{16:0}, *cis*-9 C_{18:1} and total *cis*-C_{18:1} (in g/100 g)

Semana da lactação Week of lactation	Dieta Diet			
	CT	MN	OL	OM
	C _{14:0}			
5 ^a	11,23 ^{Aa}	11,73 ^{Aa}	8,52 ^{Ab}	7,53 ^{Ab}
15 ^a	11,62 ^{Aa}	11,81 ^{Aa}	7,10 ^{Bb}	6,87 ^{Bb}
	C _{16:0}			
5 ^a	32,38 ^{Aa}	32,20 ^{Aa}	23,00 ^{Ab}	22,94 ^{Ab}
15 ^a	32,79 ^{Aa}	32,16 ^{Aa}	21,13 ^{Bb}	21,43 ^{Bb}
	AGCM			
5 ^a	50,5 ^{Aa}	50,7 ^{Aa}	35,6 ^{Bb}	32,6 ^{Cb}
15 ^a	51,4 ^{Aa}	51,0 ^{Aa}	33,9 ^{Bb}	34,5 ^{Bb}
	<i>cis</i> -9 C _{18:1}			
5 ^a	19,33 ^{Aa}	19,35 ^{Aa}	24,71 ^{Ab}	27,88 ^{Ac}
15 ^a	18,23 ^{Aa}	17,17 ^{Aa}	28,86 ^{Bb}	28,09 ^{Ab}
	<i>cis</i> -C _{18:1} totais			
5 ^a	22,22 ^{Aa}	22,84 ^{Aa}	30,28 ^{Ab}	34,91 ^{Ac}
15 ^a	21,15 ^{Aa}	21,25 ^{Aa}	34,74 ^{Bb}	35,04 ^{Ab}

EPM = erro-padrão da média (SEM = standard error of mean).

¹ CT = controle; MN = monensina; OL = óleo de soja; OM = óleo de soja + monensina.

¹ CT = control; MN = monensin; OL = soybean oil; OM = soybean oil and monensin diet.

^{A,B} mesma coluna diferem, Tukey (P < 0,05).

^{A,B} in the same column differ (P < 0,05), Tukey.

^{a,b} mesma linha diferem, Tukey (P < 0,05).

^{a,b} in the same row differ (P < 0,05), Tukey.

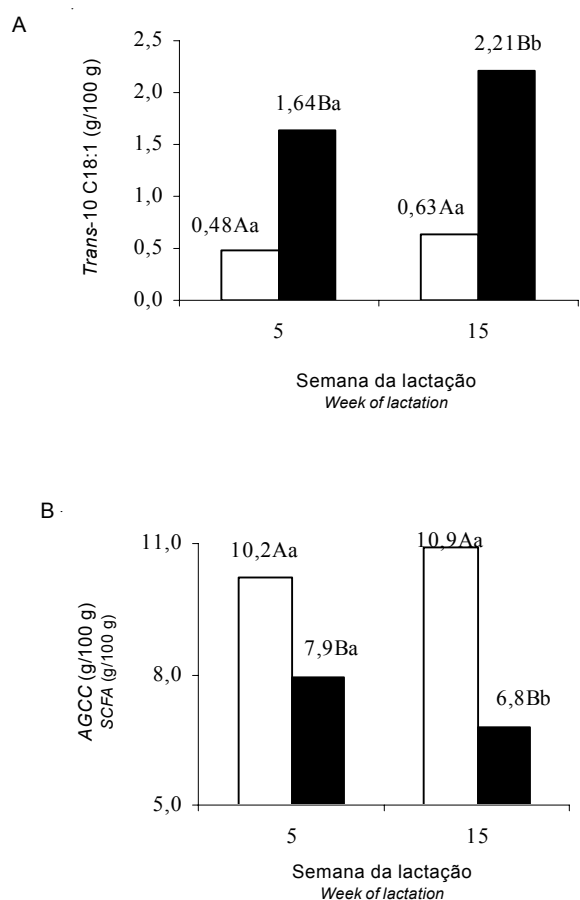


Figura 1 - Interação óleo \times semana da lactação das variáveis: *trans*-10 C_{18:1} (A), ácidos graxos de cadeia curta - AGCC (B) do leite; colunas brancas = dietas sem óleo; colunas pretas = dietas com óleo.

'A', 'B' indica diferença na mesma semana; 'a' e 'b' indicam diferença dentro do tratamento (Tukey, $P < 0,05$).

Figure 1 - Oil \times lactation week interaction of variables: *trans*-10 C_{18:1} (A), short chain fatty acids - SCFA (B) of milk; white columns = diets without oil; black columns = diets with oil. 'A', 'B' show difference in the same week; 'a', 'b' show difference in the same treatment (Tukey, $P < 0,05$).

Enquanto as dietas OL e OM propiciaram a produção de leite com maiores valores de *cis*-9 C_{18:1} e dos isômeros *cis*-C_{18:1} totais em relação às dietas CT e MN, a concentração destes AG foi aumentada da 5^a à 15^a semanas da lactação com a dieta OL. O reflexo deste aumento pode ser observado na redução dos AGCM, C_{14:0} e C_{16:0} nas mesmas semanas da lactação (Tabela 5).

A concentração de *trans*-10 C_{18:1} aumentou da 5^a à 15^a semana da lactação nas dietas com óleo de soja (Figura 1A), sugerindo efeito cumulativo sobre a população microbiana e sua atividade, no sentido de maior produção deste ácido graxo quando óleo de soja foi fornecido na dieta por longo período. Os reflexos da maior proporção de *trans*-10 C_{18:1} são a redução da proporção dos ácidos

graxos de cadeia curta nas dietas com óleo (Figura 1B) e a menor concentração de AGCM nos tratamentos OL e OM (Tabela 5) da 5^a à 15^a semana da lactação. Portanto, algum mecanismo de saturação com o *trans*-10 C_{18:1}, possivelmente com efeito cumulativo, pode ter ocorrido sobre o complexo enzimático na glândula mamária, proporcionando as menores concentrações dos AGCC e AGCM na 15^a semana da lactação.

Conclusões

O fornecimento de óleo de soja na dieta altera o perfil de ácidos graxos do leite, aumentando a participação de ácidos graxos insaturados de cadeia longa, enquanto evidências indicam que a monensina aumenta os ácidos graxos insaturados do leite, por inibir a bio-hidrogenação ruminal.

A monensina e o óleo de soja apresentam efeitos aditivos sobre os isômeros *trans*-C_{18:1}, sobretudo *trans*-10 C_{18:1}, que pode provocar efeitos cumulativos sobre a população microbiana quando o óleo de soja é fornecido por longo período, resultando em maior inibição do teor de gordura do leite.

Embora os tratamentos não tenham influenciado o conteúdo de CLA *cis*-9 *trans*-11 C_{18:2}, tanto óleo de soja como monensina aumentam *trans*-11 C_{18:1} no leite, que pode ser convertido em CLA no tecido humano e melhorar a qualidade nutritiva do leite.

Literatura Citada

- BATEMAN, H.G.; JENKINS, T.C. Influence of soybean oil in high fiber diets fed to nonlactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2451-2458, 1998.
- BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v.70, p.15-29, 2001.
- BAUMGARD, L.H.; SANGSTER, J.K.; BAUMAN, D.E. Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing amounts of *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid (CLA). **Journal of Nutrition**, v.131, p.1764-1769, 2001.
- BAUMGARD, L.H.; MATITASHVILI, E.; CORL, B.A. et al. *Trans*-10, *cis*-12 Conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2155-2163, 2002.
- BESSA, R.J.B.; SANTOS-SILVA, J.; RIBEIRO, J.M.R. et al. Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. **Livestock Production Science**, v.63, p.201-211, 2000.
- CANT, J.P.; FREDEEN, A.H.; MacINTYRE, T. et al. Effect of fish oil on milk composition in dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v.77, p.125-131, 1997.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; MANSBRIDGE, R.M. et al. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids. **Annales de Zootechnie**, v.49, p.181-205, 2000.

- CHRISTIE, W.W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. **Journal of Lipid Research**, v.23, p.1072, 1982.
- CORL, B.A.; BAUMGARD, L.H.; DWYER, D.A. et al. The role of 9-desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.12, p.622-630, 2001.
- 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.
- DUCKETT, S.K.; ANDRAE, J.G.; OWENS, F.N. Effect of high-oil corn or added corn oil on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. **Journal Animal Science**, v.80, p.3353-3360, 2002.
- EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LEÃO, M.I. et al. Efeito da combinação de óleo de soja e de monensina na dieta sobre o consumo e digestão em vacas lactantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.1, p.297-308, 2005a.
- EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LANNA, D.P.D. et al. Efeito do fornecimento de dietas com monensina e óleo de soja no desempenho de vacas leiteiras na fase inicial de lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2123-2132, 2005b.
- FELLNER, V.; SAUER, F.D.; KRAMER, J.K.G. Effect of nigericin, monensin, and tetronasin on biohydrogenation in continuous flow-through ruminal fermentors. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.921-928, 1997.
- GRINARI, J.M.; DWYER, D.A.; MCGUIRE, M.A. et al. Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1251-1261, 1998.
- GRUMMER, R.R. Effect of feed on the composition of milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3244-3257, 1991.
- HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds.). **The rumen microbial ecosystem**. 2.ed. Great Britain: Blackie Academic & Professional, 1997. p.467-491.
- IPHARRAGUERRE, I.R.; CLARK, J.H. Usefulness of ionophores for lactating dairy cows: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.106, p.39-57, 2003.
- JENKINS, T.C.; FELLNER, V.; MCGUFFEY, R.K. Monensin by fat interactions on trans fatty acids in cultures of mixed ruminal microorganisms grown in continuous fermentors fed corn or barley. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.324-330, 2003.
- JENKINS, T.C. Symposium: Advances in ruminant lipid metabolism - Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.3851-3863, 1993.
- JOHNSON JR., J.C.; UTLEY, P.R.; MULLINIX, B.G. et al. Effects of adding fat and lasalocid to diets of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.2151-2165, 1988.
- KALSCHER, K.F.; TETER, B.B.; PIPEROVA, L.S. et al. Effect of fat source on duodenal flow of trans-C18:1 and milk fat production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2115-2126, 1997.
- KELSEY, J.A.; CORL, B.A.; COLLIER, R.J. et al. The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.2588-2597, 2003.
- 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, 2002.
- LOCK, A.L.; BAUMAN, D.E. Dairy products and milk fatty acids as functional food components. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, Ithaca, 1993. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 2003, p.159-173.
- LOOR, J.J.; HERBEIN, J.H. Reduced fatty acids synthesis and desaturation due to exogenous trans-10, cis-12-CLA in cows fed oleic or linoleic oil. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.1354-1369, 2003.
- MANSBRIDGE, R.J.; BLAKE, J.S. Nutritional factors affecting the fatty acid composition of bovine milk. **British Journal of Nutrition**, v.78, Suppl. 1, p.S37-S47, 1997.
- MOSLEY, E.E.; POWELL, G.L.; RILEY, M.B. et al. microbial biohydrogenation of oleic acid to trans isomers *in vitro*. **Journal of Lipid Research**, v.43, p.290-296, 2002.
- NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; Van NEVEL, C.J. 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.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy of Science, 2001. 381p.
- NOUROOZ-ZADEH, J.; APPELQVIST, L.A. Cholesterol oxides in Swedish foods and food ingredients: milk powder products. **Journal of Food Science**, v.53, p.74-87, 1988.
- PALMQUIST, D.L.; BEAULIEU, A.D.; BARBANO, D.M. Feed and animal factors influencing milk fat composition. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1753-1771, 1993.
- PARODI, P. W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.1339-1349, 1999.
- STATISTICAL ANALYSES SYSTEM - SAS. **SAS/STAT. User's guide**. Version 6.12 4.ed. v.1. Cary: 1999. 890p.
- SAUER, F.D.; FELLNER, V.; KINSMAN, R. et al. Methane output and lactation response in Holstein cattle with monensin or unsaturated fat added to the diet. **Journal of Animal Science**, v.76, p.906-914, 1998.
- Van NEVEL, C.J.; DEMEYER, I. Lipolysis and biohydrogenation of soybean oil in the rumen *in vitro*: inhibition by antimicrobials. **Journal of Animal Science**, v.78, p.2797-2806, 1995.

Recebido: 20/10/04

Aprovado: 03/10/05