

Universidade Federal de Minas Gerais

Caroço de algodão na dieta de cabras leiteiras: parâmetros nutricionais e produtivos

Tássia Ludmila Teles Martins

Belo Horizonte

2018

Tássia Ludmila Teles Martins

Caroço de algodão na dieta de cabras leiteiras: parâmetros nutricionais e produtivos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para Obtenção do grau de Doutor em Zootecnia

Área de concentração: Nutrição Animal

Prof. Orientador: Iran Borges

Co-orientadora: Maria Izabel Carneiro Ferreira

Belo Horizonte

2018

Tese defendida e aprovada em 30/01/2018 pela Comissão Organizadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Iran Borges

Prof. Breno Mourão de Sousa

Prof^a. Cláudia Freire de Andrade Morais Penna

Prof^a. Eloísa de Oliveira Simões Saliba

Prof. Cláudio José Borela Espeschit

Sumário

Introdução.....	10
Revisão de literatura.....	11
1. Caroço de algodão na dieta de ruminantes	11
2. Metabolismo lipídico ruminal	13
4. Metabolismo lipídico na glândula mamária	19
5. Ácidos graxos do leite e saúde humana.....	20
Capítulo I: Caroço de algodão para cabras leiteiras: consumo, digestibilidade, parâmetros sanguíneos, comportamentais e desempenho produtivo de leite	21
Resumo.....	21
1. Introdução	22
2. Material e métodos.....	23
2.1. Animais e local do experimento	23
2.2. Mensurações de consumo e determinação da digestibilidade das rações experimentais e seus nutrientes	25
2.3. Mensurações da produção e composição do leite.....	27
2.4. Avaliações dos parâmetros sanguíneos	27
2.5. Acompanhamento do comportamento ingestivo	28
2.6. Delineamento experimental e análise dos dados	28
3. Resultados	30
3.1. Consumo e digestibilidade das dietas experimentais.....	31
3.2. Parâmetros sanguíneos	34
3.3. Comportamento ingestivo.....	35
3.4. Produção e composição físico-química do leite	36
4. Discussão	38
4.1. Consumo e digestibilidade dos nutrientes das rações experimentais	38
4.2. Parâmetros sanguíneos	42
4.3. Comportamento ingestivo.....	45
4.4. Produção e composição do leite	47
5. Conclusão.....	50
Capítulo II. Caroço de algodão para cabras leiteiras: perfil de ácidos graxos da gordura do leite.....	51
Resumo.....	51

1. Introdução	52
2. Material e métodos.....	53
2.1. Animais e Local do experimento.....	53
2.2. Perfil de ácidos graxos, razões e índices de ácidos graxos do leite caprino	55
2.3. Delineamento experimental e análise dos dados	56
3. Resultados	58
3.1. Ácidos graxos de cadeias curta e média	59
3.2. Ácidos graxos de cadeia longa	60
3.3. Ácidos graxos mono-insaturados.....	61
3.4. Ácidos graxos poli-insaturados.....	62
3.5. Ácidos graxos de cadeia ímpar e ramificada	63
3.6. Razões e índices de ácidos graxos	64
4. Discussão	65
4.1. Ácidos graxos saturados de cadeias curta e média	65
4.2. Ácidos graxos saturados de cadeia longa	68
4.3. Ácidos graxos de cadeias ímpares e ramificadas.....	68
4.4. Ácidos graxos insaturados	69
4.5. Ácidos linoleicos conjugados	72
4.6. Razões e índices de ácidos graxos	75
4.7. Atividade da Δ^9 desaturase	76
5. Conclusão.....	78
Referências bibliográficas.....	79

Lista de Tabelas

Tabela 1. Composição química do caroço de algodão, segundo a literatura indicada.....	11
Tabela 2. Ingredientes das dietas experimentais originalmente estabelecidas com base na matéria seca (g.kg^{-1}).....	24
Tabela 3. Composição química ingredientes dietéticos com base na matéria seca (g.kg^{-1})	24
Tabela 4. Composição química e NDT estimado das dietas experimentais com base na matéria seca (g.kg^{-1}).....	30
Tabela 5. Médias dos valores de consumo de nutrientes por cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total.....	31
Tabela 6. Médias dos consumos de extrato etéreo por cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total.....	32
Tabela 7. Médias e intervalos de confiança dos valores de digestibilidade de nutrientes por cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total.....	32
Tabela 8. Médias e intervalos de confiança dos valores de digestibilidade de extrato etéreo de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total.....	33
Tabela 9. Médias e intervalos de confiança das concentrações de parâmetros sanguíneos de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total.....	34
Tabela 10. Médias e intervalos de confiança do colesterol sanguíneo de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total	34
Tabela 11. Médias dos valores referentes à alimentação (h), ócio (h), eficiência de alimentação (EAL) min.kg^{-1} MS, tempo total de mastigação (TMT) min.kg^{-1} MS de cabras alimentadas com quantidade crescente de caroço de algodão na dieta total.....	35
Tabela 12. Médias e intervalos de confiança referentes à ruminação (h) e eficiência de ruminação (ERU) $\text{min.kg}^{-1}\text{MS}$ de cabras alimentadas com quantidade crescente de caroço de algodão na dieta total	35
Tabela 13. Médias e intervalos de confiança referentes às concentrações de componentes físico-químicos do leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total.....	36
Tabela 14. Médias e intervalos de confiança referentes às concentrações de componentes físico-químicos do leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total.....	37
Tabela 15. Ingredientes das dietas experimentais originalmente estabelecidas com base na matéria seca (g.kg^{-1}).....	54
Tabela 16. Composição química das dietas ingredientes com base na matéria seca (g.kg^{-1}) ..	54
Tabela 17. Composição química e NDT estimado das dietas experimentais com base na matéria seca (g.kg^{-1}).....	58
Tabela 18. Médias e intervalos de confiança das concentrações de ácidos graxos saturados de cadeias curta e média presentes no leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total.....	59

Tabela 19. Médias e intervalos de confiança das concentrações de ácidos graxos saturados de cadeia longa presentes no leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total	60
Tabela 20. Médias e intervalos de confiança das concentrações de ácidos graxos saturados de cadeia longa presentes no leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total	61
Tabela 21. Médias e intervalos de confiança das concentrações de ácidos graxos saturados de cadeia longa presentes no leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total	62
Tabela 22. Médias e intervalos de confiança das concentrações de ácidos graxos de cadeia ímpar e ramificada presentes no leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total.....	63
Tabela 23. Médias e intervalos de confiança de razões e índices de ácidos graxos do leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total	64

Resumo

O objetivo do presente experimento foi avaliar o uso do caroço de algodão no consumo dos animais, na sua produção de leite e no perfil de ácidos graxos do leite em cabras lactantes. O experimento foi conduzido na Granja Água Limpa e nas dependências do Campo Experimental José Henrique Bruschi (Embrapa Gado de Leite). As cabras foram distribuídas em dois quadrados latinos, 4 x 4, simultâneos, sendo quatro tratamentos e quatro períodos de 21 dias cada. As dietas experimentais foram formuladas de modo a conterem teores de caroço de algodão nas proporções de 0; 120; 150 e 180 g.kg⁻¹, proporcionando teores de extrato etéreo de 12,9; 103; 154; 281 g.kg⁻¹. Para estimar a digestibilidade empregou-se dióxido de titânio como indicador. A produção e a composição de leite foram avaliadas. As amostras de sangue foram colhidas para análise das concentrações de glicose, ureia, ácidos graxos não-esterificados, triglicerídeos, colesterol, proteínas totais e albumina. Realizou-se avaliação do comportamento ingestivo durante o período de 24 horas, com observação contínua das variáveis comportamentais: alimentação, ruminação e ócio. O perfil de ácidos graxos da gordura do leite, assim como os índices de qualidade nutricional dos lipídeos foram determinados. Os consumos de matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro não foram afetados pela inclusão de caroço de algodão na dieta, no entanto houve efeito quadrático no consumo de extrato etéreo. Comportamento similar ao do consumo foi verificado para os valores de digestibilidade. Os valores de glicose, albumina, triglicerídeos, proteína total e ácidos graxos não esterificados não sofreram efeito das inclusões avaliadas. A concentração de colesterol apresentou aumento linear com a adição de caroço de algodão na dieta. A ruminação e a eficiência de ruminação sofreram efeitos da inclusão do caroço. Efeito linear positivo foi observado para as variáveis gordura, lactose e extrato seco total no leite produzido. Os ácidos graxos de cadeias curta e média apresentaram concentrações lineares decrescentes. Os ácidos graxos *trans* 18:1, majoritariamente, exibiram resposta linear, enquanto que os ácidos *cis* 18:1, em sua totalidade, não demonstraram efeitos dos tratamentos aplicados. Entre os ácidos graxos poli-insaturados, alguns isômeros do 18:2 n-6 mostraram efeito linear crescente. O total de ácido linoléico conjugado (CLA) não foi afetado pela inclusão crescente de caroço de algodão na dieta. Houve efeito linear crescente para o total de mono e poli-insaturados. O caroço de algodão melhorou o valor nutricional da gordura do leite de cabras.

Palavras-chave: lipídeos, nutraceutico, ruminantes, subproduto, suplementação

Abstract

The objective of this research is to examine the effects of feeding whole cottonseed on intake, performance and fatty acids profile. Eight lactating goats were used in two simultaneous 4x4 Latin square design, with four treatments and four periods of 21 days each. Treatments included whole cottonseed at increasing levels of 0, 120, 150 and 180% DM basis in a Total Mixed Ration. To estimate digestibility titanium dioxide was used as a digestibility marker. Milk yield and composition were evaluated. Blood samples were collected to analyze glucose, urea, non-esterified fatty acids, triglycerides, total cholesterol, total protein and albumin. Ingestive behavior was made during a 24 h period observing feeding, rumination and idle behaviors. Fatty acids profile was determined as some quality indexes of milk. Dry matter, crude protein and neutral detergent fiber intakes were not affected by inclusion of whole cottonseed, however a quadratic effect was observed in ether extract intake. Similar results were found for nutrient digestibility. Cholesterol concentrations presented a linear increase. Yield of milk and components was similar among treatments, but milk fat percentage increased with increasing levels of whole cottonseed in diet. Rumination time and efficiency were influenced by whole cottonseed on diet. Supplementation with whole cottonseed did not alter DMI, milk yield and composition and blood parameters. Short and medium chain fatty acids concentrations linearly decreased. *Trans* 18:1 fatty acids exhibited linear increase, while *cis* 18:1 fatty acids were not affected by treatments. Some polyunsaturated fatty acids showed a linear increase. Total CLA was not affected by inclusions of whole cottonseed. A linear increase was observed for mono and polyunsaturated fatty acids. Results from that experiment indicate that whole cottonseed improved goat milk fat nutritional value.

Keywords: by-product, lipids, nutraceutical, ruminants, supplementation

Introdução

No sentido de alterar a composição da gordura do leite de modo a torná-la mais adequada ao consumo humano, a manipulação da dieta tem conseguido diminuir os teores dos ácidos graxos saturados de cadeia média, como láurico (C12:0), mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0), e aumentar a concentração do ácido oleico (C18:1 *cis*-9) e do isômero do ácido linoleico conjugado (CLA), ácido rumênico (C18:2 *cis*-9 *trans*-11). Diversas pesquisas foram realizadas para alterar a composição da gordura do leite, tornando-a mais adequada ao consumo humano.

A forma mais prática e viável de se elevar as concentrações ruminais de ácidos graxos poli-insaturados tem sido o fornecimento de fontes lipídicas na dieta de ruminantes como, por exemplo, o caroço de algodão. Uma parte da fibra é constituída pelo “linter” (10% do peso do caroço de algodão), que é de alta digestibilidade. O caroço de algodão é relativamente rico em proteína, comparado com grãos de cereais, e pode suprir uma importante porção da exigência de proteína de uma vaca leiteira. A alta energia reflete o teor de óleo do caroço (20% da MS). O caroço de algodão tem sido utilizado no teor máximo de 15% do total da dieta de vacas leiteiras para minimizar o efeito da gordura insaturada na fermentação ruminal. Para cabras leiteiras, ainda carecem informações quanto ao seu uso na dieta e seus efeitos sobre a produção e composição de ácidos graxos do leite.

Foram objetivos deste trabalho avaliar os efeitos de crescentes de inclusão de caroço de algodão em dietas de cabras em lactação sobre diversos parâmetros produtivos, plasmáticos e de composição e perfil de ácidos graxos do leite.

Revisão de literatura

1. Caroço de algodão na dieta de ruminantes

O caroço de algodão é o material que sobra após a retirada das fibras (pluma), e compreende o grão e a casca do algodão. As fibras curtas que ficam retidas junto ao caroço são denominadas línter e são fontes de fibra facilmente digestível para os ruminantes (Cardoso, 1998). A composição química do caroço de algodão está compilada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química do caroço de algodão, segundo a literatura indicada

Autores	%				
	MS	PB	EE	FDN	FDA
Cunha et al., 1998	92	20	19	.	.
Cardoso, 1998	92	23	18	47	39
Rogério et al., 2002	89	26	21	40	29
Teixeira et al., 2002	92	22	.	48	.
ElNemari Neto et al., 2003	83	22	18	43	39
Jorge, 2005	94	23	19	51	39
Teixeira e Borges, 2005	.	23	23	43	26
Melo et al., 2007	93	21	21	.	33
Viana, 2011	92	25	11	71	28
Rufino Junior et al., 2015	96	23	15	52	.

O caroço de algodão pode ser utilizado na ração de ruminantes como fonte de energia, fibra e proteína. O alto conteúdo de óleo no caroço torna-o um alimento atrativo para os animais que possuem elevados requisitos em energia, como é o caso das cabras em lactação. Além da energia, sob a forma de lipídeos, o caroço pode fornecer fibra a partir do línter e da casca, desejáveis para a manutenção de teores de fibra efetiva na dieta.

Entre as justificativas em se utilizar fontes de lipídeos na dieta de ruminantes está a de se manipular o conteúdo e o perfil de ácidos graxos da gordura do leite. Visto que, o óleo do caroço de algodão é 70% insaturado (Keele et al., 1989), este ingrediente tem sido testado como forma de alterar a produção e composição da gordura do leite.

Smith et al., (1980) trabalhando com inclusões de 0, 5, 15 e 25% de caroço de algodão na MS da dieta não relataram efeitos na produção de leite. No entanto, registraram aumento no rendimento de gordura no leite (kg.d^{-1}) assim como o percentual de gordura no leite. A inclusão de caroço de algodão na dieta reduziu as concentrações de proteína no leite. O perfil de ácidos graxos também foi alterado pela presença do caroço na dieta. Os mesmos autores descreveram que os ácidos graxos de cadeias curtas e médias, entre C6 e C12, tiveram suas concentrações reduzidas.

Sullivan et al. (2004) utilizaram lotes diferentes de caroço do algodão com concentrações crescentes de ácidos graxos livres (3, 6, 9 e 12%). O caroço foi incluído a 12,5% da MS da dieta. O consumo de matéria seca não diferiu entre os tratamentos, assim como, a produção de leite e os percentuais de proteína e lactose. Contudo, dietas contendo 6% de ácidos graxos livres tiveram os menores percentuais de gordura do leite. Quanto ao perfil de ácidos graxos, as concentrações de C6:0 diminuíram enquanto que as de C16:1 aumentaram linearmente com o aumento de ácidos graxos livres na dieta.

Melo et al., (2006) incluíram teores de 0; 6,25; 12,5; 18,75; 25% de caroço de algodão na dieta de vacas à base de palma forrageira e encontraram aumento na produção de gordura do leite corrigido para 3,5% de gordura. Além disso, a produção de gordura de leite também aumentou; porém, a produção de leite sem correção e a porcentagem de gordura do leite não foram afetados pelos teores de caroço de algodão na dieta.

Bernard et al., (2007) avaliaram a inclusão de 8,5% de 3 tipos de caroço de algodão. O caroço diferia na sua concentração de ácidos graxos livres em: 10,7; 23,1 e 35,5%. A produção de leite não diferiu entre os tratamentos, assim como o consumo de matéria seca, sendo as médias 27,5 e 39,9 kg.d^{-1} , respectivamente. Segundo estes autores, a concentração de gordura e seu rendimento foram reduzidos para as vacas alimentadas com maiores teores de ácidos graxos livres no caroço (2,87% e 1,14 kg.d^{-1}) em comparação com aquelas vacas que ingeriram dietas contendo baixos e médios teores de ácidos graxos livres (3,02% e 1,21 kg.d^{-1} – 3,13 e 1,26 kg.d^{-1}), respectivamente. As concentrações de proteína do leite não foram alteradas pelos tratamentos e apresentaram média de 2,97%. Esses resultados sugerem que a maior concentração de ácidos graxos livres no caroço teve um impacto negativo na fermentação ruminal, o suficiente para reduzir a síntese de gordura no leite, mas não a ponto de limitar a disponibilidade de proteína e energia para manter a produção de leite e a síntese de proteína do leite.

Oguz et al. (2006) determinaram os efeitos de 0; 12,5; 25 e 37,5% de caroço de algodão na dieta de vacas em lactação e observaram que a produção e percentual de gordura do leite não diferiram entre os tratamentos. Costa et al. (2011) adicionaram teores de 5, 10 e 15% de caroço de algodão na matéria seca da dieta de vacas lactantes e demonstraram que a suplementação não alterou a relação proteína:gordura no leite, contudo foi capaz de aumentar a produção de leite corrigida da 11 para 19,3 kg.d⁻¹ para os tratamentos controle e 15%, respectivamente.

Almeida et al. (2016) utilizaram o caroço de algodão em substituição ao milho e relataram redução no consumo de matéria seca, além de mudanças na fermentação ruminal, sem entretanto, ocorrência de alterações na produção e composição do leite.

2. Metabolismo lipídico ruminal

Os lipídios têm sido introduzidos na dieta de ruminantes com os objetivos de aumentar a ingestão de energia quando o consumo de matéria seca for limitado, aumentar a eficiência do uso de energia sem aumentar a produção de calor e melhorar o perfil de ácidos graxos vindos do leite através da mudança na síntese de gordura do leite pela glândula mamária. O teor de gordura e sua composição em ácidos graxos no leite são fáceis de serem manipulados pela dieta, em comparação com a lactose e a proteína (Bernard et al., 2009).

Atualmente, a suplementação tem sido feita mais no sentido de aumentar a quantidade do ácido linoleico conjugado (CLA) no leite, pois este é considerado um agente importante na prevenção do câncer, infarto e outras doenças em humanos (Astrup, 2014).

Além disso, a gordura do leite é um componente tecnológico importante, pois está associada ao rendimento do queijo, sua firmeza, e também na cor e sabor do produto acabado. (Vargas-Bello-Pérez et al., 2015). Com base nestes fundamentos, o estudo dos lipídios e suas propriedades, têm sido cada vez mais incentivados.

Existem limitações quanto à porcentagem de lipídios que podem ser introduzidos na dieta. Isso porque eles são acusados de causar efeitos prejudiciais à microbiota ruminal, com impactos negativos na digestibilidade dos nutrientes e por consequência no desempenho e produção dos animais (Jenkins, 1993).

As principais fontes de lipídios na dieta dos ruminantes são forragens e concentrados, embora o conteúdo de lipídios possa ser aumentado com o uso de suplementos de gordura. Forragens contêm 4 a 6% do peso seco da folha como lipídios, dos quais as classes principais

são os glicolipídios (Harfoot, 1981). O conteúdo lipídico de concentrados é geralmente maior que o das forragens, sendo que a maior parte deste está presente na forma de triglicerídeos.

Os lipídios esterificados quando ingeridos pelo animal são extensivamente hidrolisados por lipases, fosfolipases e galactolipases associadas à membrana celular bacteriana, liberando, entre outros, glicerol, galactose e ácidos graxos (Mackle et al., 2003).

O glicerol e a galactose entram na célula bacteriana e são prontamente metabolizados em ácidos graxos voláteis. Os ácidos graxos, que na sua maioria são insaturados, tem uma parte incorporada aos lipídios bacterianos, mas, a maior proporção dos insaturados são bio-hidrogenados e fluem do rúmen para o abomaso como ácidos graxos saturados livres e sem ser utilizados pela população microbiana ruminal (Martin e Jenkins, 2002).

A determinação do teor de lipídios da dieta é um dos primeiros requisitos para a formulação da mesma. Em uma revisão Palmquist e Jenkins (2003) compararam os métodos usados para determinar os teores de lipídios da dieta e discutem algumas das suas limitações práticas.

O procedimento analítico mais comum é o método de extração de éter (EE) de Soxhlet. No entanto, EE também pode extrair compostos que não são ácidos graxos e que não tem nenhum valor nutritivo e, como consequência, o EE superestima o conteúdo lipídico da dieta (Palmquist e Jenkins, 2003).

Por causa disso, Allen (2000) desenvolveu uma equação para predizer o conteúdo total de ácidos graxos dos valores de EE das dietas. Por sua vez, o NRC (2001) adotou uma versão modificada desta equação onde:

$$\text{Total de ácidos graxos (\%)} = \text{EE} - 1, \text{ se } \text{EE} \geq 3,0.$$

Portanto, é possível afirmar que a predição do conteúdo de ácidos graxos a partir de valores EE irá depender da dieta e de seus componentes.

As ligações duplas dos ácidos graxos insaturados em sua forma natural são quase exclusivamente na configuração *cis*; geralmente, fontes forrageiras contêm uma maior concentração de ácido linolênico, enquanto que o ácido linoleico é o ácido graxo predominante em grãos de cereais e sementes (Allen, 2000).

Ácidos graxos insaturados tais como estes são suscetíveis às alterações durante o processamento e armazenamento. Os lipídios em forragens podem ser alterados durante a fermentação anaeróbica, que ocorre durante a ensilagem e os ácidos graxos insaturados presentes na forragem, bem como nos concentrados, também irão diminuir suas concentrações ao longo do tempo como resultado da lenta oxidação (Van Soest, 1982).

Um extenso metabolismo microbiano ocorre no rúmen e isso provoca efeitos no perfil de ácidos graxos disponíveis para absorção e utilização pelos tecidos. Davis (1990) descreveu como ocorrem os dois maiores processos metabólicos que envolvem lipídios: a hidrólise das ligações éster e a bio-hidrogenação dos ácidos graxos insaturados.

3.1. Hidrólise dos lipídeos

Quando os lipídios da dieta chegam ao rúmen, o passo inicial no metabolismo microbiano lipídico é a hidrólise das ligações éster encontradas nos triglicerídeos, fosfolipídios e galactolipídios. A hidrólise dos lipídios da dieta é devido às bactérias ruminais, com pouca evidência de papel significativo dos protozoários e fungos ou de lipase salivar (Doreau et al., 1997).

A hidrólise dos lipídios é um processo extracelular, e o glicerol e os açúcares que são liberados são rapidamente metabolizados pelas bactérias do rúmen. A hidrólise ruminal tem sido caracterizada em *Anaerovibrio lipolytica* que hidrolisa triglicerídeos e *Butyrivibrio fibrisolvens* que hidrolisa fosfolipídios e glicolipídios (Harfoot e Hazlewood, 1997).

Apesar da extensão da hidrólise ser geralmente alta (>85%), muitos fatores foram identificados afetando a taxa e a extensão que a hidrólise acontece (Harfoot, 1981). Por exemplo, a extensão da hidrólise pode ser reduzida à medida que o nível de lipídios na dieta aumenta (Beam et al., 2000) ou ainda quando pH ruminal é baixo, ou ainda, os ionóforos inibem a atividade e crescimento de bactérias (Demeyer e Doreau, 1999).

3.2. Bio-hidrogenação dos lipídeos

A bio-hidrogenação de ácidos graxos insaturados é a segunda maior transformação sofrida pelos lipídios da dieta no rúmen. Os principais substratos das enzimas extracelulares das bactérias para a bio-hidrogenação são os ácidos linoleico e linolênico e quanto maior a insaturação mais rapidamente ocorre a bio-hidrogenação (Doreau et al., 1997).

Para a maioria das dietas os ácidos linoleico e linolênico são hidrogenados entre 70-95% e 85-100%, respectivamente (Doreau e Ferlay, 1994). Estas altas taxas de hidrogenação são reduzidas quando dietas com alto concentrado são fornecidas aos animais, sendo a inibição da lipólise atribuída ao baixo pH que é normalmente alcançado em dietas deste tipo (Van Nevel e Demeyer, 1995).

Os passos da bio-hidrogenação foram estabelecidos com o uso de culturas puras de micro-organismos ruminais. As bactérias ruminais envolvidas no processo foram classificadas em dois grupos, A e B, baseando-se nos seus caminhos metabólicos (Kemp e Lander, 1984).

Para obter a completa bio-hidrogenação dos ácidos graxos poli-insaturados, bactérias de ambos os grupos são necessárias.

Apesar do grupo A apresentar muitas bactérias capazes de hidrogenar ácidos graxos poli-insaturados até *trans*-11 18:1 (ácido vacênico). Apenas poucas espécies caracterizadas como sendo do grupo B podem hidrogenar o *trans*-11 18:1 até 18:0 (ácido esteárico) (Harfoot e Hazlewood, 1997).

Esta característica de bio-hidrogenação explica porque o aumento da ingestão de ácidos graxos poli-insaturados causa um aumento na concentração de ácidos graxos mono-insaturados e uma diminuição na concentração de ácidos graxos saturados (Fellner et al., 1995).

O passo inicial na bio-hidrogenação ruminal envolve uma isomeração da configuração *cis*-12 para a *trans*-11, resultando em um ácido graxo *trans*-11. Posteriormente, ocorre uma redução da ligação dupla *cis*-9 resultando em um ácido graxo *trans*-11. O passo final é uma hidrogenação de uma ligação dupla *trans*-11 produzindo um 18:0 (Harfoot e Hazlewood, 1997).

É possível intervir no processo de bio-hidrogenação de diferentes formas. Por exemplo, os suplementos de dieta a base de óleo de peixe parecem inibir o último passo da bio-hidrogenação porque eles aumentam o fluxo do *trans*-11 18:1 e reduzem o de 18:0 (Wachira et al., 2000). Assim, suplementos contendo óleo de peixe devem afetar primariamente as bactérias do grupo B.

Da mesma forma, dietas que causam redução do pH e o fornecimento de ionóforos inibem o passo final da bio-hidrogenação, resultando em acúmulo de *trans*-11 18:1 (Van Soest e Demeyer, 1995).

Dois intermediários importantes são formados: o *trans*-11 18:1 formado a partir de ácidos linoleico e linolenico e o *cis*-9 *trans*-11 (CLA) (ácido rumênico) formado na bio-hidrogenação do ácido linoleico. Estes intermediários estão presentes na gordura de ruminantes na relação de 3:1, mas no rúmen *cis*-9 *trans*-11 CLA é apenas um intermediário transitório e por isso o *trans*-11 18:1 é acumulado (Shingfield et al., 2003).

Isso se dá porque a maior parte do *cis*-9, *trans*-11 (CLA) encontrado na gordura de ruminantes tem origem na glândula mamária e tecido adiposo a partir de síntese endógena envolvendo a enzima Δ^9 desaturase, tendo o *trans*-11 18:1 derivado do rúmen como substrato (Bauman et al., 2003). Esta foi uma descoberta de especial importância visto que o *cis*-9,

trans-11 CLA está entre os mais potentes anti-carcinogênicos naturais (Lock e Bauman, 2003).

Na medida em que as técnicas de análises são melhoradas, a complexidade da bio-hidrogenação vai sendo compreendida. Além dos *trans*-11 18:1 e *cis*-9, *trans*-11 CLA como intermediários, outros isômeros estão presentes e o fluxo destes do rúmen já foi abordado na literatura para bovinos de corte e vacas em lactação (Griinari e Bauman, 1999).

Muitos intermediários são formados na bio-hidrogenação ruminal de ácidos graxos poli-insaturados e são absorvidos e incorporados na gordura dos ruminantes. Sabe-se que a dieta e mudanças no ambiente ruminal podem mudar os caminhos da bio-hidrogenação resultando em modificações nos ácidos graxos intermediários.

Até hoje, isso foi bem caracterizado para dietas que causam a depressão na gordura do leite (MFD) onde um aumento considerável na concentração de *trans*-10 *cis*-12 CLA e *trans*-10 18:1 no fluido ruminal e na gordura do leite é geralmente observado (Bauman e Griinari, 2003).

Evidências sugerem que o papel da bio-hidrogenação é desempenhado quase exclusivamente pelas bactérias ruminais. Dawson e Kemp (1969) mediram as taxas de bio-hidrogenação em ovelhas faunadas e defaunadas e não encontraram diferenças, concluindo que os protozoários não são essenciais para a bio-hidrogenação.

Experimentos *in vitro* demonstraram que os protozoários têm maiores concentrações de CLA que as bactérias, porém, não possuem a atividade da Δ^9 desaturase, sugerindo que os protozoários incorporam, preferencialmente, CLA e *trans*-11 18:1 formados pelas bactérias (Devillard et al., 2006). Os fungos do rúmen têm capacidade para bio-hidrogenar (Nam e Garnsworthy, 2007), mas a taxas mais lentas do que as bactérias.

Como consequência da ação dos micro-organismos do rúmen, aproximadamente, 85% dos lipídios que entram no intestino delgado são ácidos graxos livres, predominantemente saturados e adsorvidos na superfície de pequenas partículas de alimento. Os 15% restantes dos lipídios são fosfolipídios bacterianos (Shingfield e Griinari, 2007).

Uma porção de ácidos graxos encontrados no rúmen são fosfolipídios, componentes de membrana plasmática microbiana. Os micro-organismos ruminais sintetizam os fosfolipídios a partir da síntese de novo (principalmente 16:0 e 18:0) e da captação de ácidos graxos pré-formados principalmente PUFA (ácidos graxos poliinsaturados) (Jenkins, 1993; Harfoot e Hazlewood, 1997).

Portanto, o teor de suplemento lipídico e sua composição podem afetar a composição de ácidos graxos dos micro-organismos ruminais (Bauchart et al., 1990).

Demeyer e Doreau (1999) compilaram dados de cinco estudos e estimaram que as bactérias podem contribuir com mais de 17% dos lipídios que passam pelo rumem quando uma dieta a base de silagem de milho é fornecida.

A análise dos lipídios que chegam ao intestino delgado mostrou que estes são basicamente idênticos àquele que deixam o rúmen. Portanto, não ocorre absorção ou modificação significativa dos ácidos graxos de cadeia média e longa no omaso e abomaso (Noble, 1981).

Como consequência do metabolismo ruminal os lipídios que entram no intestino delgado consistem de ácidos graxos altamente saturados, principalmente os 16:0 e 18:0 (Demeyer e Doreau, 1999).

O montante de lipídios que chega ao duodeno pode exceder a quantidade que foi ingerida e isso ocorre com intensidade em dietas com altas relações de volumosos. Os suplementos lipídicos na dieta podem levar a maiores, iguais ou menores fluxos pós-rúmen em relação ao que foi fornecido e ingerido de ácidos graxos, devido aos diferentes efeitos que estes podem ter sobre a síntese lipídica microbiana (Lock e Shingfield, 2004).

A absorção de gorduras no intestino delgado ocorre no jejuno e a formação de micelas é a chave para uma eficiente absorção de ácidos graxos em todas as espécies (Davis, 1990). A bile contém sais biliares e lecitina enquanto que o suco pancreático fornece enzimas para conversão de lecitina em lisolecitina e bicarbonato para aumentar o pH (Davis, 1990).

As lisolecitinas, juntamente com os sais biliares, provocam a dessorção dos ácidos graxos das partículas de alimento e das bactérias, o que permite a formação das micelas (Doreau e Ferlay, 1994). Uma vez que as micelas são formadas e captadas pelas células epiteliais do jejuno onde os ácidos graxos serão reesterificados em triglicerídeos e então serão empacotados em quilomícrons (Doreau e Ferlay, 1994). Em animais de produção de leite, as lipoproteínas transportam os ácidos graxos principalmente para a glândula mamária (Demeyer e Doreau, 1999).

Durante a passagem dos ácidos graxos para o tecido mamário, os triglicerídeos são amplamente hidrolisados por uma lipoproteína lipase. Pode ocorrer ainda, certa desaturação de ácidos graxos de cadeias média e longa, pela enzima Δ^9 desaturase (Lock e Bauman, 2003).

A glândula mamária incorpora os ácidos graxos transportados pelos quilomícrons na forma de triglicerídeos, utilizando o glicerol produzido a partir da glicose. A síntese da gordura do leite usa tanto os ácidos graxos derivados da dieta como os ácidos graxos sintetizados *de novo* a partir do acetato. Na glândula mamária a síntese de novo é limitada a ácidos graxos de cadeia curta e média (Lock e Bauman, 2003).

4. Metabolismo lipídico na glândula mamária

Os glóbulos de gordura do leite são formados por triglicerídeos (96 a 98% dos lipídeos totais do leite) e pequenas quantidades de diacilglicerídeos, monoacilglicerídeos, ácidos graxos livres e ésteres de retinol e colesterol (Jensen, 2002).

Os ácidos graxos incorporados nos triglicerídeos derivam de duas fontes, da captação de ácidos graxos pré-formados da circulação periférica e da síntese de novo de ácidos graxos (Bauman e Davis, 1974).

As células epiteliais da glândula mamária sintetizam ácidos graxos de cadeias curta e média, usando o acetato e o β -hidroxibutirato como substratos. Este processo contribui com todo conteúdo de 4:0 a 12:0, com a maior parte do 14:0 e aproximadamente 50% do 16:0 secretados no leite. Já os ácidos graxos com 18 ou mais carbonos são provenientes da circulação plasmática de lipídeos (Chilliard et al., 2000).

A síntese de novo requer acetil-CoA, duas enzimas-chave - acetil-CoA carboxilase (ACC) e ácido graxo sintase (FAS) -, e demanda equivalentes redutores na forma da NADPH (Barber et al., 1997).

Tanto o acetato quanto o β -hidroxibutirato contribuem para a unidade inicial de dois e quatro carbonos, respectivamente. O acetato é convertido em acetil-CoA no citosol e também é usado para aumentar o tamanho da cadeia via rota malonil-CoA, enquanto que o β -hidroxibutirato é diretamente incorporado após a ativação do butiril-CoA (Bauman e Davis, 1974).

Segundo Barber et al. (1997), os ácidos graxos com 16 ou mais carbonos inibem a síntese de novo pelas células epiteliais da glândula mamária *in vitro*, e que este efeito é exacerbado durante incubações com ácidos graxos com longas cadeias e com alto grau de saturação.

Os ácidos graxos de cadeia longa que atingem as células mamárias podem sofrer desaturação (Chilliard et al., 2000). Isto porque, estas células possuem um complexo enzimático denominado estearoil-CoA desaturase (Δ^9 desaturase), que catalisa a oxidação dos

ácidos acil-CoA resultando na introdução de ligações dupla *cis*, entre os carbonos 9 e 10 (Palmquist et al., 2005).

Portanto, a síntese de novo, a captação de ácidos graxos e a formação de produtos a partir da atividade da Δ^9 desaturase contribuem para o *pool* de ácidos graxos para a síntese de triglicerídeos do leite (Shingfield et al., 2010).

5. Ácidos graxos do leite e saúde humana

Nas últimas três décadas, tem-se especulado que a gordura presente em produtos derivados do leite é uma fonte desnecessária de calorias e de gordura saturada na dieta humana (German et al., 2009). Assume-se que o consumo de tais produtos, que contêm gordura saturada, aumenta o risco de doenças cardiovasculares, e baseado nisto, as autoridades em nutrição humana advertem para o consumo de produtos de origem animal que contenham baixo ou zero percentual de gordura, ao invés dos produtos normalmente comercializados (Mensink et al., 2003). Além disso, acredita-se que não consumir gordura proveniente de produtos derivados do leite e da carne leva a redução no consumo de calorias (German et al., 2009).

Estas considerações, no entanto tem sido cada vez mais questionadas. Ao assumir que os produtos de origem animal são uma fonte desnecessária de gordura saturada acaba por desconsiderar que o leite contém, aproximadamente, 400 ácidos graxos diferentes, dos quais os ácidos graxos saturados fazem parte (Kratz et al., 2013).

Assim, a gordura que vem do leite, é uma fonte complexa de ácidos graxos, e contém ácidos graxos de cadeias curta, média, longa, ácidos graxos *trans* e de cadeia ramificada, todos estes com seus respectivos significados biológicos (Jakobsen et al., 2008).

Crichton e Alkerwi (2014) relataram que o consumo de leite e de seus derivados (iogurte e queijo) está associado positivamente com uma melhor saúde cardiovascular. Na mesma linha, Astrup (2014), em seu estudo epidemiológico, concluiu que o consumo de produtos derivados do leite, como o iogurte, está relacionado com uma redução no risco de ganho de peso e obesidade, assim como de doenças cardiovasculares.

Capítulo I: Caroço de algodão para cabras leiteiras: consumo, digestibilidade, parâmetros sanguíneos, comportamentais e desempenho produtivo de leite

Resumo

O objetivo do presente experimento foi avaliar o uso do caroço de algodão e seus efeitos no consumo, digestibilidade, perfil sanguíneo, produção e composição do leite e comportamento ingestivo de cabras em lactação. O experimento foi conduzido na Granja Água Limpa e nas dependências do Campo Experimental José Henrique Bruschi, de propriedade da Embrapa Gado de Leite. As cabras foram distribuídas em dois quadrados latinos, 4 x 4, simultâneos, sendo quatro tratamentos e quatro períodos de 21 dias cada (14 dias para adaptação dos animais às dietas e sete dias para coleta de dados. As dietas experimentais foram formuladas de modo a conterem teores de caroço de algodão iguais a 0; 120; 150 e 180 g.kg⁻¹ formando a Ração Totalmente Misturada (*Total Mixed Ration* - TMR). A ingestão de matéria seca foi registrada, individualmente, diariamente durante todo o período experimental. Os alimentos oferecidos e as sobras foram amostrados para análises posteriores. Para estimar a digestibilidade foi utilizado o indicador dióxido de titânio. As ordenhas foram feitas mecanicamente e a produção de leite registrada diariamente durante todo o período de coleta. As amostras de sangue foram colhidas para análise das concentrações de glicose, ureia, ácidos graxos não-esterificados, triglicerídeos, colesterol total, proteínas totais e albumina. O comportamento ingestivo foi realizado durante o período de 24 horas, com observação contínua das variáveis comportamentais: alimentação, ruminação e ócio. Os consumos de matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro não foram afetados pela inclusão crescente de caroço de algodão na dieta, no entanto foi observado um efeito quadrático no consumo de extrato etéreo. Tipo de resposta similar ao do consumo foi verificado para os valores de digestibilidade. Os valores de glicose, albumina, triglicerídeos, proteína total e ácidos graxos não esterificados não sofreram efeito do tratamento aplicado. A concentração de colesterol apresentou aumento linear com a adição de caroço de algodão na dieta. A ruminação e a eficiência de ruminação sofreram efeitos da inclusão do caroço. Um efeito linear positivo foi observado para as variáveis gordura, lactose e extrato seco total. A suplementação com caroço de algodão de cabras em lactação não interferiu com o CMS, não deprimiu a produção e composição do leite e parâmetros sanguíneos.

Palavras-chave: lipídeos, subproduto, suplementação

1. Introdução

O caroço de algodão pode ser utilizado na ração de ruminantes como fonte de energia, fibra e proteína. Seu alto conteúdo de óleo torna-o um alimento atrativo para os animais que possuem elevados requisitos em energia, como é o caso das cabras em lactação. Além da energia, sob a forma de lipídeos, o caroço pode fornecer fibra através do linter e da casca, desejáveis para a manutenção de teores de fibra efetiva na dieta.

Estas qualidades, aliadas muitas vezes ao baixo custo, fazem deste produto um bom suplemento proteico e energético. Melo et al., (2006) incluíram teores de 0; 6,25; 12,5; 18,75; 25% de caroço de algodão na dieta de vacas à base de palma forrageira e encontraram aumento na produção de gordura do leite corrigido para 3,5% de gordura. Além disso, a produção de gordura de leite também aumentou; porém, a produção de leite sem correção e a porcentagem de gordura do leite não foram afetados pelos teores de caroço de algodão na dieta.

Um desafio para os nutricionistas, é a busca constante de alimentos para melhorar o desempenho e produção dos animais. É necessário, portanto, um conhecimento das características desses alimentos, bem como, suas possíveis limitações devido a aspectos químicos, físicos e econômicos.

Várias pesquisas têm sido desenvolvidas com lipídios (protegidos ou não). Assim, a suplementação lipídica pode ser um forte instrumento para melhorar o perfil dos ácidos graxos do leite, melhorando também seu valor nutricional.

Os objetivos do presente experimento foram avaliar viabilidade do uso do caroço de algodão, em inclusões de 12, 15 e 18% da matéria seca na dieta total, sobre o consumo e a digestibilidade de nutrientes, a produção e composição do leite, os parâmetros plasmáticos e o comportamento ingestivo de cabras em lactação.

2. Material e métodos

2.1. Animais e local do experimento

O experimento foi conduzido na Granja Água Limpa e nas dependências do Campo Experimental José Henrique Bruschi, de propriedade da Embrapa Gado de Leite, localizado no município de Coronel Pacheco/MG e da Escola de Veterinária da UFMG, em Belo Horizonte/MG. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no uso de Animais – CEUA/CNPGL 07/2013.

Foram utilizadas oito cabras da raça Toggenburg, multíparas, com média de 50 dias em lactação ao início do ensaio, produzindo 1,61 kg de leite e pesando 51,5kg em média.

Os animais foram alojados em baias individuais (3 m²) com piso ripado com comedouros e bebedouros individuais.

2.1.1. Dietas experimentais e procedimentos de alimentação

Os tratamentos consistiram na suplementação dos animais com caroço de algodão em quatro teores: não suplementados (controle); 120; 150; e 180 g.kg⁻¹ MS. As dietas foram calculadas para fornecer 2,69 Mcal.Kg⁻¹ de energia metabolizável e 9,13% de proteína metabolizável.

As dietas experimentais (tratamentos) foram formuladas com base nas exigências nutricionais estabelecidas pelo NRC (2007) para essa categoria animal, de modo a conterem teores de caroço de algodão iguais a 0; 120; 150 e 180 g.kg⁻¹, e relação volumoso:concentrado igual a 55:45, em base de matéria seca (MS).

A dieta foi composta por silagem de milho como único volumoso, o qual foi fornecido misturado a um concentrado composto por milho moído, farelo de soja, caroço de algodão, calcário calcítico e fosfato bicálcico (Tabela 2), formando a Ração Totalmente Misturada (*Total Mixed Ration* - TMR). Os ingredientes que compuseram o concentrado foram misturados com uso de um misturador vertical, com capacidade para 500 kg. A mistura dos ingredientes da TMR foi realizada manualmente em um vasilhame com capacidade aproximada de 15 kg. Na Tabela 3 está descrita a composição química dos ingredientes dietéticos.

As refeições foram ofertadas aos animais às 7h e às 16h, logo após a ordenha da manhã e da tarde, na forma de mistura total, fornecidas de modo ter sobra entre 10 e 15% do ofertado na base seca. A silagem utilizada foi produzida na propriedade, o silo era aberto todos os dias por volta das 10 h da manhã, e a silagem ficava estocada em tonéis de plástico com capacidade para 100 L. Esta silagem era pesada na manhã seguinte para ser fornecida aos animais. O preparo dos concentrados era realizado com os ingredientes disponíveis, sendo que o caroço de algodão foi adquirido no mercado local.

Tabela 2. Ingredientes das dietas experimentais originalmente estabelecidas com base na matéria seca (g.kg⁻¹)

Ingredientes, g.kg ⁻¹	Tratamentos			
	0 g.kg ⁻¹	120 g.kg ⁻¹	150 g.kg ⁻¹	180 g.kg ⁻¹
Milho Silagem	550,0	550,0	550,0	550,0
Algodão Caroço	0,0	120,0	150,0	180,0
Milho fubá	282,3	186,3	163,2	140,0
Soja farelo	140,7	101,2	91,2	80,0
Min-Caprilos ¹	10,0	10,0	10,0	10,0
Calcário	4,0	21,7	25,5	29,0
Fosfato bicálcico	7,8	5,5	4,9	4,3
Sal comum	5,0	5,0	5,0	5,0

¹Min-Caprilos: Caprilofós

Tabela 3. Composição química ingredientes dietéticos com base na matéria seca (g.kg⁻¹)

Nutrientes	Ingredientes			
	Milho fubá	Soja farelo	Algodão Caroço	Milho Silagem
ASE ¹	877	878	906	881
MO ²	864,7	808	862,4	817
MM ³	12,3	70	43,6	64
EE ⁴	336	46	189	108
FDA ⁵	51,9	78,8	337,7	292
FDN ⁶	139	135	418,9	488
LDA ⁷	22,9	0	82,9	33,9
PB ⁸	71,5	481,3	234,3	75,9
PB-FDA ⁹	1,9	5,4	18,2	7,3
PB-FDN ¹⁰	8,1	17,6	53,8	16,6
CNF ¹¹	441,2	267,7	114,2	264,1
CHOT ¹²	580,2	402,7	533,1	752,1

¹amostra seca em estufa; ²matéria orgânica; ³matéria mineral; ⁴ extrato etéreo; ⁵fibra em detergente ácido; ⁶fibra em detergente neutro; ⁷ lignina em detergente ácido; ⁸proteína bruta; ⁹proteína ligada à fibra em detergente ácido;

¹⁰proteína ligada à fibra em detergente neutro; ¹¹carboidratos não fibrosos; ¹² carboidratos totais

2.2. Mensurações de consumo e determinação da digestibilidade das rações experimentais e seus nutrientes

O período experimental (21 dias) compreendeu a adaptação (14 dias) e o período de coleta (7 dias). A ingestão de matéria seca foi registrada diária e individualmente durante todo o período experimental (21 dias). As rações oferecidas e as sobras foram pesadas. A partir das amostras diárias do ofertado e sobras, obtidas durante o período de coleta, formou-se uma amostra composta das dietas, por tratamento, e das sobras, por animal. As amostras dos oferecidos, sobras e fezes foram congeladas à -15°C para análises posteriores.

As rações oferecidas, sobras e fezes foram pré-secadas em estufa com circulação de ar, a 55°C por 72 horas, e moídas em moinho de facas do tipo Willey dotado de peneira com perfurações de 1 mm. Posteriormente, foram analisadas no Laboratório de Análise de Alimentos da Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, MG). A composição química dos ingredientes foi determinada utilizando-se os métodos da AOAC (2000) para matéria seca (MS; 934.01) e proteína bruta (PB; 986.06). A fibra detergente neutro analisada com amilase termostável e expressa incluindo cinzas residuais (FDN), fibra em detergente ácido expressa incluindo cinzas residuais (FDA) e ligninas determinadas pela solubilização da celulose com ácido sulfúrico foram analisadas de acordo com Mertens (2002), AOAC (2000), procedimento 973.187 e Van Soest et al. (1991), respectivamente. Os componentes da FDN e FDA foram posteriormente processados para seu conteúdo nitrogenado (NIDN e NIDA) de acordo com o procedimento 984.13 da AOAC (2000).

O cálculo do consumo de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e fibra em detergente neutro foram feitos a partir da seguinte fórmula:

$$\text{Oferecido total do nutriente em MS, g/d} - \text{sobra total do nutriente em MS, g/d}$$

Os valores de energia dos ingredientes foram estimados pelas equações propostas pelo NRC (2001), sendo estimado pela equação:

$$NDT = (PBd + CNFd + FDNd + AGd \times 2,25) - 7$$

Em que:

$$PBd = PB \times \text{Exp} \left[-1,2 \times \frac{PIDA}{PB} \right] \text{ - para volumosos;}$$

$$PBd = \left[1 - 0,4 \times \frac{PIDA}{PB} \right] \times PB - \text{para concentrados};$$

$$CNFd = 0,98 \times CNF;$$

$$FDNd = 0,75 \times (FDNcp - LDA) \times \left[1 - \left(\frac{LDA}{FDNcp} \right) 0,667 \right]; \quad 0,75 = \text{constante de proporcionalidade}$$

$$AG = EE - 1$$

Para estimar a digestibilidade foi utilizado o indicador dióxido de titânio, esse foi administrado no choco misturado a uma pequena quantidade de concentrado, logo após a ordenha e imediatamente antes do fornecimento da dieta. Foi usada uma dosagem de quatro gramas por animal, por dia, dividida em duas porções, sendo dois gramas na parte da manhã e da tarde.

Este procedimento foi realizado durante um período de adaptação de cinco dias para obtenção de um platô de excreção mais homogêneo e para a colheita das fezes foram utilizados os cinco dias seguintes. As fezes foram colhidas diretamente na ampola retal, uma vez por dia, em diferentes horários do período de colheita (6 h, 8 h, 10 h, 12 h e 14 h). Depois foi formada uma amostra composta, com base no peso pré-seco, por animal. Para o cálculo da digestibilidade foi utilizada a fórmula:

$$\frac{[(\text{Consumo do nutriente, g} - \text{quantidade de nutriente nas fezes, g}) / \text{Consumo do nutriente em g}] \times 100}{}$$

O teor de dióxido de titânio foi determinado segundo Myers et al.(2004), com adaptações. Uma amostra de 0,5 g de fezes foi digerida, por 2 horas, em temperatura de 400°C, em tubos para determinação de proteína. Após a digestão, 15 mL de H₂O₂ (30%) foram adicionados lentamente e o material do tubo, transferido para um béquer e completado com água destilada até 100 g. Logo após esse procedimento o material do béquer foi transferido para balões de 100 mL. Na digestão foram utilizados 15 mL de ácido sulfúrico e 5g de mistura digestora para proteína. Uma curva padrão foi preparada com 2, 4, 6, 8, 10mg de dióxido de titânio e as leituras realizadas em espectrofotômetro com comprimento de onda de 410nm.

Para o cálculo da produção fecal estimada pelo dióxido de titânio, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$PFTi \text{ (g MS/dia)} = Ti \text{ fornecido (g/dia)} / (\%Ti \text{ nas fezes/MS } 105^{\circ}C)$$

Onde PFTi = produção fecal obtida pelo dióxido de titânio, Ti Fornecido e Ti nas fezes, a quantidade de dióxido de titânio fornecido e excretado, % Ti nas fezes, a porcentagem de titânio nas fezes e MS, a matéria seca 105°C.

2.3. Mensurações da produção e composição do leite

As ordenhas foram feitas mecanicamente, duas vezes ao dia (às 6 h e às 14 h) e a produção de leite registrada diariamente durante todo o período de coleta. O registro das produções individuais de leite foi realizado nos cinco dias de coleta de amostras de cada período a partir da soma das produções das duas ordenhas diárias aferidas por meio de balança analógica. A produção de leite corrigida (PLC) para 4% de gordura (PLC4%) foi calculada segundo proposta pelo NRC (1989):

$$PLC \text{ 4,0\%} = (0,4 \text{ x kg de leite}) + (15 \text{ x kg de gordura})$$

Neste mesmo período, foram colhidas em frascos plásticos de 50 mL amostras individuais para a determinação da composição físico-química do leite, contendo uma pastilha de bronopol como conservante. A colheita foi feita diretamente no balde onde era pesado o leite e, após a homogeneização do leite ordenhado, foram coletadas alíquotas (nas ordenhas da manhã e da tarde) com o objetivo de obter amostras representativas da produção individual no período de 24 horas. As amostras foram mantidas sob refrigeração (10°C) até o momento das análises (teores de gordura, lactose, proteína, extrato seco total e desengordurado e contagem de células somáticas), realizadas no Laboratório de Qualidade do Leite da Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, MG), no equipamento Bentley 2000 (*Bentley Instruments*). A avaliação da contagem de células somáticas (CCS) foi expressa em células/mL.

2.4. Avaliações dos parâmetros sanguíneos

As amostras de sangue foram obtidas via punção da veia jugular, após a ordenha da manhã do último dia de colheita de amostras de fezes de cada fase dos períodos, utilizando tubos a vácuo contendo (EDTA-K3) como anticoagulante e fluoreto de sódio. As amostras foram imediatamente centrifugadas (1.500 g por 15 min) para separação do plasma. As alíquotas destinadas à análise das concentrações de glicose, ureia, ácidos graxos não-esterificados (AGNE), triglicerídeos, colesterol, proteínas totais e albumina, foram acondicionadas em microtubos (capacidade de 2 mL) com tampa, previamente identificados, e

congelados a -10°C . As concentrações plasmáticas de glicose foram determinadas pelo método enzimático da glicose oxidase (*kit* Glicose PAP ref. 84 da LabTest® Diagnóstico S.A., Lagoa Santa, MG); as de ureia, pelo método enzimático-colorimétrico da urease (*kit* Ureia CE ref. 27 da LabTest® Diagnóstico S.A., Lagoa Santa, MG) e AGNE (*kit* NEFA C, Wako Pure Chemicals Industries).

2.5. Acompanhamento do comportamento ingestivo

O comportamento ingestivo foi realizado durante o período de 24 horas, com observação contínua das variáveis comportamentais: alimentação, ruminação e ócio. O tempo de mastigação total foi determinado pelo somatório dos tempos despendidos em alimentação e ruminação. A observação noturna dos animais foi realizada mediante o uso de iluminação artificial de lâmpadas fluorescentes. Os resultados referentes aos fatores do comportamento ingestivo foram obtidos pelas relações:

$$\text{Eficiência de alimentação MS (g MS.h}^{-1}\text{)} = \frac{\text{consumo de matéria seca}}{\text{tempo total de alimentação}}$$

$$\text{Eficiência de ruminação MS (g MS.h}^{-1}\text{)} = \frac{\text{consumo de matéria seca}}{\text{tempo total de ruminação}}$$

2.6. Delineamento experimental e análise dos dados

As cabras foram distribuídas em dois quadrados latinos, 4×4 , simultâneos, sendo quatro tratamentos e quatro períodos de 21 dias cada (14 dias para adaptação dos animais às dietas e sete dias para coleta de dados), totalizando 84 dias. As pesagens dos animais foram feitas na parte da manhã, antes da ordenha, com jejum prévio. Os animais foram pesados no primeiro e último dia de cada período de tratamento.

Os dados relativos as variáveis (*comportamento, produção e composição do leite, consumo e digestibilidade dos nutrientes, parâmetros sanguíneos*) foram ajustados ao seguinte modelo estatístico (Tempelman, 2004):

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + c_j + \beta_k + \pi_l + \alpha c \beta \pi_{ijkl} + e_{ijkl} \quad \text{Eq (x)}$$

No qual Y_{ijkl} corresponde à observação referente ao j -ésima cabra que recebeu o i -ésimo tratamento no k -ésimo período alocado no l -ésimo quadrado latino. μ é o efeito de intercepto e α_i , β_k e π_l representam os efeitos fixos do i -ésimo nível de inclusão de caroço de algodão ($i = 0, 12, 15$ e 18% de inclusão), k -ésimo ($k = 1, 2, 3$ e 4) e do l -ésimo quadrado latino (1 e 2), respectivamente. a_j representa o efeito aleatório da j -ésima cabra ($j = 1, 2, \dots, 7$ e 8). Este modelo é uma generalização de uso do quadrado latino balanceado proposto por Lucas (1957). A unidade experimental foi considerada a interação quadrupla (*subject* = *quadrado latino* $\times$ *período* $\times$ *tratamento* $\times$ *animal*), sendo essa interação considerada como efeito aleatório com a matriz de variância e covariância modelada como componente de variância σ^2 (*Type* = *VC*) (Littell et al., 2006). e_{ijkl} foi considerado o efeito aleatório.

A Eq (x) foi ajustada utilizando o procedimento de modelo linear misto (PROC MIXED) do SAS (versão 9.4), sendo método de estimação utilizado o de máxima verossimilhança.

Hipóteses nulas quanto aos tratamentos, e seus efeitos linear, quadrático e cúbico foram rejeitados quando $p < 0,05$. Para regressões significativas, os intervalos de confiança estimados a 95% (IC 95%) foram apresentados como se segue: $\hat{y}_x(L_{inf}; L_{sup})$; onde $\hat{y}_x$ é a variável dependente predita para um dado nível de inclusão de caroço de algodão, x ; L_{inf} e L_{sup} são os limites inferior e superior, respectivamente, do IC de 95%. Para as variáveis que apresentaram ausência de efeitos de tratamento, o IC de 95% para as médias de mínimos quadrados da variável dependente em cada nível de inclusão de caroço de algodão ($\bar{y}_x$) foi fornecido da seguinte forma: $\bar{y}_x(L_{inf}; L_{sup})$. Uma aproximação do IC de 99% foi estimada para X_m como ponto de máximo ou mínimo do ajuste do polígono quadrático de acordo com Neter e Wasserman (1974).

3. Resultados

A Tabela 4 descreve a composição química das dietas experimentais.

Tabela 4. Composição química e NDT estimado das dietas experimentais com base na matéria seca (g.kg⁻¹)

Composição química (g.kg ⁻¹)	Dietas			
	0 g.kg ⁻¹	120 g.kg ⁻¹	150 g.kg ⁻¹	180 g.kg ⁻¹
ASE ¹	896	904	895	895
MO ²	827	830	824	816
EE ³	12,9	103	154	281
FDN ⁴	317	359	399	362
FDA ⁵	177	222	248	219
PB ⁶	148	145	143	145
PB-FDA ⁷	7,1	7,9	8,0	7,7
PB-FDN ⁸	19,0	17,6	19,6	16,6
LDA ⁹	24,6	38,8	41,3	34,9
MM ¹⁰	69	74	71	79
NDT (NRC 2001) ¹¹	733,51	816,22	871,95	913,91

¹amostra seca em estufa; ²matéria seca; ³extrato etéreo; ⁴fibra em detergente neutro; ⁵fibra em detergente ácido;

⁶proteína bruta; ⁷proteína ligada à fibra em detergente ácido; ⁸proteína ligada à fibra em detergente neutro;

⁹lignina; ¹⁰matéria mineral e ¹¹nutrientes digestíveis totais.

3.1. Consumo e digestibilidade das dietas experimentais

Os consumos de matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro sofreram efeito cúbico (Tabela 5), enquanto que houve efeito quadrático no consumo de extrato etéreo (Tabela 6).

Tabela 5. Médias dos valores de consumo de nutrientes por cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total

Variáveis (g)	Média - IC95%				P valores		
	0 g.kg ⁻¹	120 g.kg ⁻¹	150 g.kg ⁻¹	180 g.kg ⁻¹	L	Q	C
CMS ¹	1526,8(1264,8;1788,9)	1544,4(1282,4;1806,5)	1243,2(966,8;1519,7)	1477,9(1201,5;1754,4)	0,391	0,973	0,049
CPB ²	181,0(150,5;211,5)	212,4(181,9;242,9)	178,2(146,0;210,4)	212,7(180,5;244,9)	0,191	0,845	0,031
CFDN ³	490,8(419,6;562,0)	550,7(479,6;621,9)	404,6(329,3;480,0)	495,8(420,4;571,1)	0,708	0,479	0,002

¹consumo de matéria seca; ²consumo de proteína bruta; ³consumo de fibra detergente neutro.

Tabela 6. Médias dos consumos de extrato etéreo por cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total

	Média -IC95%				P valores		
	0 g.kg ⁻¹	120 g.kg ⁻¹	150 g.kg ⁻¹	180 g.kg ⁻¹	L	Q	C
CEE ¹	111,1(93,3;128,8)	91,6(39,54;143,7)	86,7(20,9;152,4)	81,8(2,2;161,4)	<0,0001	0,007	0,137

¹consumo de extrato etéreo. CEE= 111,9 – 1,6253 CA + 0,04 CA. CA: caroço de algodão na dieta

Os percentuais de digestibilidade de matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro e matéria orgânica não sofreram efeitos da inclusão crescente de caroço de algodão na dieta (Tabela 7), ao contrário, efeito quadrático foi observado na digestibilidade de extrato etéreo (Tabela 8).

Tabela 7. Médias e intervalos de confiança dos valores de digestibilidade de nutrientes por cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total

Variáveis	Média - IC95%				P valores		
	0 g.kg ⁻¹	120 g.kg ⁻¹	150 g.kg ⁻¹	180 g.kg ⁻¹	L	Q	C
DMS ¹	72,38 (65,08;79,68)	73,14 (65,84;80,44)	68,99 (61,67;76,29)	66,83 (59,53;74,13)	0,2485	0,2799	0,6945
DPB ²	70,97 (62,36;79,59)	74,52 (65,91;83,14)	70,16 (61,54;78,77)	70,27 (61,65;78,88)	0,9131	0,4283	0,5402
DFDN ³	47,47 (32,80;62,15)	51,71 (37,03;66,38)	50,99 (36,32;65,67)	39,87 (25,20;54,54)	0,6838	0,1786	0,6063
DMO ⁴	74,59 (67,54;81,63)	74,98 (67,93;82,02)	71,44 (64,40;78,48)	69,04 (62,0;76,08)	0,2532	0,3107	0,7851

¹digestibilidade da matéria seca; ²digestibilidade da proteína bruta; ³digestibilidade da fibra; ⁴digestibilidade da matéria orgânica

Tabela 8. Médias e intervalos de confiança dos valores de digestibilidade de extrato etéreo de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total

	Média - IC95%				P valores		
	0 g.kg ⁻¹	120 g.kg ⁻¹	150 g.kg ⁻¹	180 g.kg ⁻¹	L	Q	C
DEE ¹	74,61(67,71;81,52)	82,22(61,87;102,57)	84,12(58,41;109,84)	86,03(54,87;117,18)	<,0001	0,0712	0,699

¹digestibilidade do extrato etéreo. DEE = 74,6144 + 0,634 CA – 0,05331 CA². CA: caroço de algodão na dieta.

3.2. Parâmetros sanguíneos

Os valores de glicose, albumina, triglicerídeos, proteína total e ácidos graxos não esterificados não sofreram efeito do tratamento aplicado (Tabela 9). A concentração de colesterol apresentou aumento linear com a adição de caroço de algodão na dieta (Tabela 10).

Tabela 9. Médias e intervalos de confiança das concentrações de parâmetros sanguíneos de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total

Variáveis	Médias - IC 95%				P valores		
	0 g.kg ⁻¹	120 g.kg ⁻¹	150 g.kg ⁻¹	180 g.kg ⁻¹	L	Q	C
Glicose (g/dL)	63,2 (57,9;68,5)	64,2 (58,7;69,8)	61,8 (56,2;67,3)	66,5 (60,7;72,4)	0,545	0,440	0,166
Albumina (mg/dL)	3,5 (3,3;3,8)	3,4 (3,1;3,7)	3,3 (3,1;3,6)	3,7 (3,4;4,0)	0,994	0,083	0,267
Triglicerídeos (mg/dL)	45,8 (37,1;54,4)	49,6 (40,3;58,8)	48,9 (39,6;58,1)	38,4 (28,4;48,4)	0,668	0,096	0,508
Proteína total (g/dL)	8,6 (8,1;9,1)	8,6 (8,1;9,2)	8,6 (8,1;9,1)	8,9 (8,3;9,4)	0,568	0,447	0,674
Ácidos graxos não esterificados (mmol/L)	0,147 (0,006;0,292)	0,018 (-0,133;0,170)	0,052 (-0,098;0,204)	0,051 (-0,111;0,214)	0,161	0,439	0,747

Tabela 10. Médias e intervalos de confiança do colesterol sanguíneo de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total

	Médias - IC 95%				P valores		
	0 g.kg ⁻¹	120 g.kg ⁻¹	150 g.kg ⁻¹	180 g.kg ⁻¹	L	Q	C
Colesterol	136,3(106,3;166,4)	166,6(140,6;192,6)	174,1(147,3;200,9)	181,6(153,4;209,9)	0,002	0,550	0,796

Colesterol = 136,33 + 2,5188 CA. CA: caroço de algodão na dieta.

3.3.Comportamento ingestivo

A ruminação e a eficiência de ruminação foram afetadas pela inclusão do caroço, sendo que a primeira aumentou e a segunda diminuiu linearmente com o tratamento aplicado (Tabela 12). Quanto aos outros parâmetros de comportamento avaliados não houve efeito dos tratamentos (Tabela 11).

Tabela 11. Médias dos valores referentes à alimentação (h), ócio (h), eficiência de alimentação (EAL) min.kg⁻¹ MS, tempo total de mastigação (TMT) min.kg⁻¹ MS de cabras alimentadas com quantidade crescente de caroço de algodão na dieta total

Variáveis	Médias - IC 95%				P valores		
	0 g.kg ⁻¹	120 g.kg ⁻¹	150 g.kg ⁻¹	180 g.kg ⁻¹	L	Q	C
AL ¹	2,95 (2,3972; 3,5528)	2,9503 (2,3343; 3,5662)	2,636 (2,02; 3,2519)	2,836 (2,22; 3,4519)	0,518	0,982	0,427
Ócio	14,5425 (13,1658; 15,9192)	13,4738 (12,0109; 14,9368)	13,5224 (12,0594; 14,9854)	13,4253 (11,9623; 14,8882)	0,113	0,669	0,878
EAL ²	563,36 (422,42; 704,3)	581,27 (430,6; 731,94)	537,96 (387,29; 688,63)	553,53 (402,86; 704,2)	0,868	0,842	0,718
TMT ³	9,1625 (7,8222; 10,5028)	10,3486 (8,9234; 11,7738)	10,2629 (8,8377; 11,6881)	10,3629 (8,9377; 11,7881)	0,085	0,607	0,846

¹alimentação; ²eficiencia de alimentação; ³tempo total de mastigação.

Tabela 12. Médias e intervalos de confiança referentes à ruminação (h) e eficiência de ruminação (ERU) min.kg⁻¹MS de cabras alimentadas com quantidade crescente de caroço de algodão na dieta total

Variáveis	Média - IC95%				P valores		
	0 g.kg ⁻¹	120 g.kg ⁻¹	150 g.kg ⁻¹	180 g.kg ⁻¹	L	Q	C
Ruminação	6,29 (5,11; 7,46)	7,26 (5,25; 7,32)	7,50 (6,46; 8,05)	7,74 (6,66; 8,34)	0,016	0,530	0,806
ERU ¹	287,5 (199,3; 375,8)	217,0 (209,7; 365,4)	199,4 (171,6; 262,4)	181,8 (148,2; 250,6)	0,050	0,805	0,509

¹eficiencia de ruminação.

3.4. Produção e composição físico-química do leite

As variáveis proteína, extrato seco desengordurado, contagem células somáticas, produção de leite e produção de leite corrigida não foram afetados pela adição do caroço de algodão na dieta (Tabela 13). Um efeito linear positivo foi observado para os teores de gordura, lactose e extrato seco total (Tabela 14).

Tabela 13. Médias e intervalos de confiança referentes às concentrações de componentes físico-químicos do leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total

Variáveis	Médias - IC 95 %				P valores		
	0 g.kg ⁻¹	120 g.kg ⁻¹	150 g.kg ⁻¹	180 g.kg ⁻¹	L	Q	C
Proteína (%)	2,82 (2,65; 3,00)	2,86 (2,68; 3,03)	2,80 (2,63; 2,98)	2,81 (2,63; 2,99)	0,787	0,409	0,411
ESD ¹ (%)	7,89 (7,65; 8,13)	8,01 (7,77; 8,25)	7,96 (7,73; 8,21)	8,02 (7,77; 8,26)	0,074	0,708	0,434
CCS ² /mL	1112,3 (559,4; 1665,2)	1146,3 (583,0; 1709,5)	901,8 (337,5; 1466,1)	781,9 (217,6; 1346,2)	0,107	0,148	0,564
Ureia (mg/dL)	17,2 (15,0; 19,3)	19,2 (16,9; 21,5)	17,6 (15,3; 19,9)	18,6 (16,3; 20,9)	0,300	0,56	0,239
PL ³ (kg/d)	1,62 (1,21; 2,01)	1,58 (1,18; 1,99)	1,61 (1,21; 2,02)	1,47 (1,06; 1,88)	0,495	0,476	0,574
PLC ⁴ (kg/d)	1,42 (1,06; 1,77)	1,42 (1,06; 1,79)	1,50 (1,13; 1,86)	1,35 (0,99; 1,71)	0,866	0,448	0,370

¹Extrato seco desengordurado; ²contagem células somáticas; ³produção de leite; ⁴produção de leite corrigida

Tabela 14. Médias e intervalos de confiança referentes às concentrações de componentes físico-químicos do leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total

	Médias - IC 95%				P valores		
	0 g.kg ⁻¹	120 g.kg ⁻¹	150 g.kg ⁻¹	180 g.kg ⁻¹	L	Q	C
Gordura (%)	3,22 (2,97; 3,48)	3,40 (3,00; 3,45)	3,45 (3,21; 3,60)	3,50 (3,25; 3,65)	0,008	0,888	0,360
Lactose (%)	4,24 (4,10; 4,37)	4,31 (4,12; 4,36)	4,33 (4,20; 4,42)	4,35 (4,22; 4,44)	0,015	0,659	0,761
ES ¹ (%)	11,13 (10,65; 11,60)	11,38 (10,71; 11,55)	11,45 (11,00; 11,77)	11,51 (11,05; 11,84)	0,006	0,792	0,762

¹Extrato seco total.

Gordura=3,2228 + 0,01516 CA;

Lactose=4,2395 + 0,005988 CA;

ES=11,1265+ 0,02146CA.

4. Discussão

4.1. Consumo e digestibilidade dos nutrientes das rações experimentais

Devido à ausência de trabalhos com a espécie caprina e o uso de caroço na dieta, comparações do presente trabalho serão feitas majoritariamente com trabalhos da espécie bovina.

As respostas cúbicas registradas para os consumos de matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro carecem de explicação biológica muito embora, Rodriguez (1984) e Borges (1997) ao trabalharem com inclusões crescentes de farelo de arroz integral (0, 25, 50 e 75%) em rações a base de feno de braquiária para ovinos, e caroço de algodão integral em rações contendo bagaço de cana auto hidrofílico ou feno de *tifton* 85, respectivamente, tenham reportado em seus achados e na literatura consultada, alguns eventos com tais respostas cúbicas quando alimentos contendo óleos foram estudados em quantidades crescentes na MS de rações de ruminantes.

Chen et al. (2008), utilizando o caroço de algodão em 10% da matéria seca da dieta em comparação com outras fontes de lipídios para vacas em lactação não relataram alteração no CMS pelos animais devido ao caroço. As cabras são animais bem mais seletivos que as vacas e, ainda assim, o consumo da dieta total foi similar entre os tratamentos. Mesmo com a habilidade de selecionar ou não o caroço de algodão na mistura total, o CMS mostrou-se semelhante entre os animais submetidos às inclusões do caroço às rações. Com isso é possível inferir que as quantidades ofertadas não atingiram valores capazes de ocasionarem redução na ingestão de MS para essa categoria de cabras.

Como a proteína e fibra em detergente neutro são nutrientes que compõem a matéria seca e estão em concentrações similares entre os tratamentos, o CPB e o CFDN acompanharam a resposta do CMS, bastante coerente, visto que mais de 50% da MS das rações eram compostas por essas frações, numa relação percentual entre MS consumida e FDN + PB consumidas, tem-se 44,00; 49,41; 46,88 e 47,94%, para os tratamentos com 0, 120, 150 e 180 g.kg⁻¹, respectivamente. Tal diferença com a ração ofertada é normal e reflete seleção que ocorre na ingestão dos diferentes ingredientes das rações. Trabalhando com rações contendo diversas proporções de vários resíduos de frutas, fornecidos a borregos Santa Inês, Rogério (2005) registrou esse tipo de comportamento ingestivo de forma muito clara e bem definida, atribuindo tais resultados à seleção voluntária da ingestão voluntária, ressaltou ainda que a depender do grau de inclusão de um alimento na ração pode-se intensificar essa diferença entre a relação os ingredientes entre o que foi ofertado e o realmente consumido.

Sabe-se que a parte fibrosa das dietas para ruminantes determinam fortemente os parâmetros de fermentação ruminal (VanSoest, 1994), que, por conseguinte, afeta o consumo voluntário pelos animais. A diferença entre os tratamentos está no percentual de extrato etéreo fornecido pela dieta, assim, também o CEE foi diferente entre as rações. Com o aumento da inclusão de caroço de algodão na dieta, elevou-se também a quantidade de óleo de algodão ingerida, bem como a parcela que chegou ao rúmen.

Mesmo que o percentual de EE fornecido na dieta tenha sido crescente, o CEE foi quadrático. As cabras ajustaram seu consumo de MS a fim de manter um percentual de EE na MS consumida em 7,28; 5,93; 6,97 e 5,53, respectivamente, o que pode ser observado também pelos valores de EE nas sobras em gramas (7,4; 16,6; 20,0 e 15,7) que explicam a redução do CEE com a inclusão do caroço.

Esse consumo seletivo pelas cabras pode ser interpretado como um mecanismo metabólico, a fim de manter um nível adequado de lipídios, em detrimento do consumo de FDN e PB, dado a importância fisiológica destes nutrientes. É conhecido, em pequenos ruminantes, o consumo preferencial de plantas taníferas quando estes animais encontram-se parasitados por nematóides gastrointestinais (Villalba et al. 2010; 2013). Pode-se dizer que as cabras, visto que lhes foi dada a chance, escolheram no cocho aquilo que mais beneficiaria seu estado produtivo.

De acordo com Palmquist (1995) a digestão e utilização dos ácidos graxos do caroço de algodão são dependentes da ruminação e mastigação que irão promover o acesso microbiano ao conteúdo presente na semente. Segundo esse estudo realizado *in situ* digestão do caroço de algodão em 48 h foi essencialmente zero. O autor postulou que o línter, constituído de celulose pura, com alta degradabilidade, que representa 10 a 15% do caroço de algodão, otimizando assim a digestão das sementes, como um todo, pois propicia seu aprisionamento no *mat* ruminal, aumentando a oportunidade de as sementes serem ruminadas e mastigadas, promovendo maior acesso dos micro-organismos aos substratos.

Mesmo que o línter leve ao efeito de enchimento ruminal considerado como mecanismo físico, diminuindo a taxa de passagem, nessa linha de pensamento é preciso lembrar que o CMS também é regulado pelo consumo de energia da dieta que é um mecanismo fisiológico. A substituição de carboidratos por fontes de lipídeos aumenta a densidade energética da dieta, isso porque os lipídeos possuem 2,25 vezes mais energia do que os carboidratos. Deste modo, menor quantidade de alimento será necessária ingerir para atender suas necessidades energéticas (NRC, 2001).

Pela quantidade de celulose presente no línter do caroço, as bactérias necessitam de estar em contato com a partícula de alimento devido à ação do celulosoma das bactérias, complexo multienzimático responsável pela digestão da celulose. Weimer (1996) relatou que a digestão da celulose envolve a adesão de células microbianas às fibras através do glicocálice, uma estrutura glicoproteica, que protege tanto as células de engolfamento por protozoários quanto das enzimas celulolíticas da degradação por proteases ruminais, enquanto mantém os produtos da degradação enzimática disponíveis para serem utilizadas pelas bactérias.

Para Jenkins (1993) esta adesão será prejudicada devido à camada de lipídeos que irá envolver as partículas de alimento. Provavelmente, isso não ocorreu visto que nem o consumo e nem a digestibilidade foram alterados pelos tratamentos.

De acordo com Moore et al. (1986) a fração óleo do caroço de algodão, não necessariamente, compromete a digestibilidade da fibra. Isso porque, a liberação do óleo a partir da semente acontece de forma lenta, resultando em efeitos mínimos dos ácidos graxos sobre a atividade dos micro-organismos celulolíticos. Além disso, o grau de saturação dos ácidos graxos irá influenciar a capacidade de bio-hidrogenação destes pelos micro-organismos.

Diferentemente das bactérias aminolíticas que usam amônia, peptídeos e aminoácidos com fonte de nitrogênio, as bactérias celulolíticas usam o nitrogênio da amônia (Russel et al., 1992). Logo, se de alguma forma, a adição de caroço e seus ácidos graxos tivesse interferido na atividade destas bactérias, era de se esperar que a digestibilidade da fibra fosse afetada de algum modo, o que não ocorreu no presente estudo.

Destaca-se ainda, que as bactérias são incapazes de utilizar os ácidos graxos como fonte de energia, mas parte deles pode ser incorporada aos lipídios da membrana bacteriana. Acredita-se que esta reação tem a função detoxicante, uma vez que ácidos graxos insaturados são tóxicos a muitas espécies bacterianas ruminais (Jenkins, 1993). Maia et al. (2010) investigaram os mecanismos pelos quais os ácidos graxos poli-insaturados afetam o crescimento de *Butyrivibrio fibrisolvens*, e concluíram que a bio-hidrogenação ocorre para permitir que essa espécie sobreviva aos efeitos bacteriostáticos dos ácidos graxos poli-insaturados, e que a toxicidade dos mesmos está relacionada a efeitos no metabolismo das bactérias e não a efeitos sobre a integridade de suas membranas.

Ainda, é preciso refletir sobre as bactérias lipolíticas, como a *Anaerovibrio lipolytica*, que produzem uma lipase extracelular e tem a capacidade de hidrolisar diglicerídeos mais

rapidamente do que os triglicerídeos (Hungate, 1966). A presença destas bactérias também contribui para a diminuição dos possíveis efeitos causados pelos lipídeos, no ambiente ruminal. Isso posto, torna possível levantar a hipótese de que a adição de óleo a partir do caroço de algodão influa na composição da microbiota ruminal de tal forma a favorecer o aproveitamento do EE presente no rúmen; assim, toda parcela de óleo, incorporada ou não à massa microbiana que atinge o duodeno venha a ser melhor digerida.

É possível imaginar que à medida que estes ácidos graxos do óleo foram sendo liberados, de forma concomitante, também foram sendo bio-hidrogenados, sem produzir tais efeitos tóxicos sobre os micro-organismos ruminais, ou mesmo o efeito de *coating* citado por Jenkins (1993) em sua clássica revisão, segundo a qual o óleo incorporado em rações de ruminantes dificulta o acesso às partículas de alimento pelos micro-organismos.

Grainger et al. (2010) suplementaram vacas com caroço de algodão e determinaram que ocorria uma redução na produção de metano de 3,5 g de $\text{CH}_4 \cdot \text{Kg}^{-1}$ da MS ingerida. Esta redução apontada por estes autores é consistente com trabalhos anteriores, que estudaram a adição de óleos de semente na dieta de ruminantes, dentre eles o trabalho de Martin et al., (2010).

O processo de bio-hidrogenação, que ocorre nas insaturações dos ácidos graxos, representa uma via alternativa para o hidrogênio produzido no rúmen, reduzindo a quantidade disponível deste elemento para a formação de CH_4 (Jenkins, 1993; Martin et al., 2008).

Baseando-se nesta ideia, existe a possibilidade de que o processo de bio-hidrogenação tenha acontecido de maneira intensa e completa, pois a digestibilidade dos nutrientes em geral não foi afetada. Ou seja, a captura de hidrogênios pode ter tido um efeito benéfico de evitar que os ácidos graxos que poderiam interferir com a atividade dos micro-organismos, ou mesmo diminuir o acesso dos mesmos a fibra ocorresse, o que reduziria a quantidade de energia que poderia ser utilizada, o que poderia resultar em uma queda na produção de leite, fato não observado neste estudo. Também é possível argumentar que as taxas fracionais de liberação do óleo contido no caroço foi baixa o suficiente para proporcionar o anteriormente exposto.

Deve-se considerar ainda que, como destacado por Grainger et al. (2010) e Martin et al., (2010), que nos casos onde ocorre redução na produção de metano, significa que o animal perde menos energia e pode utilizar-se desta para uso em produção.

Assim, os coeficientes de DMS, DPB, DFDN e DMO não sofreram efeitos mesmo com o aumento da porção de óleo de algodão que chegava ao rúmen. Pode-se inferir também

que essa maior presença de óleo também não alterou a atividade de outros micro-organismos que atuam sobre as partículas de alimento, visto que estes coeficientes de digestibilidade não diferiram entre os tratamentos. Almeida et al. (2016) trabalhando com inclusão de 12% (120g.Kg^{-1}) de caroço na dieta de vacas também descreveram que a digestibilidade dos nutrientes, exceto de EE, não foi alterada com o tratamento, no presente ensaio a inclusão máxima foi de 180g.kg^{-1} (18%) sem afetar tais parâmetros.

É preciso ponderar que apesar das dietas totais apresentarem teores de extrato etéreo acima do que a literatura exaustivamente cita como limitante (entre 5 e 7%), a fonte primordial de ácidos graxos no presente estudo apresenta-se como que protegida no caroço. Além disso, não importa somente a quantidade de extrato etéreo presente em uma dieta, mas também, a quantidade e tipo de ácidos graxos encontrados nestas fontes. A taxa de passagem da digesta é maior em cabras do que em vacas (Hart 2000). É possível sugerir que este fato diminua os efeitos dos ácidos graxos da dieta sobre alguns parâmetros ruminais.

Atestando esta teoria, Stoffet et al. (2015) demonstraram que mesmo quando o total de ácidos graxos na dieta ficou abaixo de 3%, óleos ricos em ácido linoleico ocorreu redução na produção de leite, pela interferência na secreção de ácidos graxos com menos de 18 carbonos no leite. Assim, concluíram que a composição de ácidos graxos dos suplementos lipídicos, é importante mesmo com teores de ácidos graxos totais da dieta menores do que 3%.

4.2. Parâmetros sanguíneos

Os valores apresentados no presente estudo para as concentrações de glicose sanguínea estão dentro dos valores apontados por Kaneko et al. (1997) como referência em cabras. De acordo com estes autores, os valores de referência para glicose estão entre 50 e 75 mg.dL^{-1} . Este resultado indica que a glicose circulante não limitou as reações metabólicas dependentes desta. Outra conclusão provável com este valor de glicose similar entre as cabras é de que a dieta foi capaz de fornecer esqueletos de carbono para a síntese adequada de propionato, que por difusão passiva alcança o fígado para ser utilizado como precursor da glicose. A colheita do sangue foi realizada no mesmo horário para todas as cabras, o que pode justificar a ausência de diferenças entre os tratamentos.

A partir da atuação de hormônios e outros intermediários bioquímicos, a glicose é utilizada pela glândula mamária e outros tecidos como fonte de energia para suas atividades de catabolismo e anabolismo (Danfaer, 1994). Visto que, a concentração de glicose entre as cabras foi semelhante e dentro dos valores de referência para a espécie, pode-se considerar

que este metabólito não foi limitante para os tecidos que o utilizam, não interferindo, portanto no metabolismo destes tecidos dependentes de glicose.

Os substratos quantitativamente importantes para a gliconeogênese hepática na ordem de captação pelo fígado são o propionato (60-74%), L-lactato (16-26%), alanina (3-5%), valerato e isobutirato (5-6%), glicerol (0,5-3%) e aminoácidos (8-11%). Esses percentuais representam estimativas da contribuição relativa dos diferentes substratos gliconeogênicos para a liberação hepática de glicose (Bergman e Heitmann, 1978).

Estes outros substratos que não o propionato, podem ter contribuído para a gliconeogênese e mantiveram as concentrações de glicose sanguínea dentro da normalidade, visto a necessidade e a prioridade da glândula mamária pela glicose. O glicerol, proveniente da hidrólise de triglicerídeos no rúmen, pode ter aumentado sua contribuição para a gliconeogênese, já que maior concentração de triglicerídeos chegou ao rúmen pela adição do caroço de algodão na dieta total. Ou ainda, pode ter sido utilizado como fonte de energia por meio da glicólise.

As concentrações de triglicerídeos foram similares entre os tratamentos, no entanto, estão acima dos valores considerados como referência por Kaneko et al. (1997) (6 e 32 mg.dL⁻¹).

No caso do presente ensaio, uma possibilidade para tal resposta é a maior absorção de triglicerídeos no intestino delgado. Isso porque, maiores quantidades de caroço sendo fornecido aumentam a concentração de triglicerídeos ingeridos. Ainda, é possível que maior quantidade de fosfolipídios microbianos tenha deixado o rúmen, o que significa que um maior conteúdo de ácidos graxos pode ter sido incorporado na parede microbiana.

A maior concentração de triglicerídeos no sangue indica que houve maior necessidade de transportadores para captar esse conteúdo e transportá-lo para a linfa. Assim, justificam-se as concentrações de colesterol encontrar-se bem acima dos valores aceitos como referência (80 a 130 mg/dL *versus* 136,6; 166,6; 174,1; 181,6 gm/dL).

Segundo Doreau e Chilliard (1997) poucos ácidos graxos não-esterificados (ácidos graxos livres) são encontrados no corpo dos animais, a maioria dos ácidos graxos é encontrada esterificada em glicerol na forma de glicerolipídios como os triglicerídeos e fosfolipídios. No tecido adiposo e na glândula mamária de lactantes, a maior parte dos ácidos graxos é esterificada para formar triglicerídeos. No fígado e outros tecidos, os ácidos graxos são esterificados para formar fosfolipídios como componentes de membrana.

Os ácidos graxos não-esterificados funcionam como um biomarcador de mobilização de tecido adiposo. Isso vai acontecer quando o balanço energético for negativo, então os animais irão mobilizar os lipídeos que estão estocados em seus tecidos adiposos, principalmente na forma de ácidos graxos não-esterificados (Adewuyi et al., 2005).

Os resultados de ácidos graxos não-esterificados indicam ausência de diferença na mobilização do tecido adiposo entre as cabras, que pode estar relacionada à alta qualidade da dieta, rica em energia consumida pelos animais neste período, o que reduziu as alterações no metabolismo energético, independentemente da condição corporal destas fêmeas.

Em cabras leiteiras no período periparturiente, Rodrigues et al. (2006) não encontraram efeito do escore de condição corporal ao parto sobre a concentração de ácidos graxos não-esterificados, nas oito semanas iniciais de lactação. Essa pode ser uma explicação para a ausência de efeito nos ácidos graxos não-esterificados, pois as cabras do presente estudo não alteraram muito o peso vivo e o escore de condição corporal entre os diferentes períodos. Além disso, o CMS foi similar, como já discutido, indicando que a demanda energética foi suprida normalmente entre os tratamentos.

Conforme Fernandes et al. (2012), as variações dos níveis de ácidos graxos não-esterificados são menos sensíveis que os de colesterol no período absorvivo, sendo o último altamente responsivo a ingestão de energia. Talvez por isso as concentrações de ácidos graxos não-esterificados não tenham sido modificadas.

É possível inferir que a maior mobilização lipídica que se constata no início da lactação e no presente estudo iniciou-se aos 50 dias de lactação, provavelmente tenha contribuído para que tal fenômeno já se teria findado.

O colesterol é um indicador confiável do metabolismo energético no fígado, particularmente da exportação de lipídios na forma de VLDL (Ndlovu et al., 2007). Além disso, a concentração sanguínea de colesterol constitui um indicador importante do *status* nutricional de animais lactentes, permitindo avaliar a contribuição do leite no aporte energético desses animais (Fernandes et al. 2012). Ainda, conforme estes autores o aumento dos níveis de colesterol ocorre em resposta à ingestão de níveis elevados de energia na forma de lipídios.

Desta forma, o fato de alimentar as cabras com caroço pode ter elevado o número de partículas HDL. Um aumento na ingestão de lipídeos à custa dos carboidratos levará a um aumento no fluxo de ácidos graxos através da circulação. Este aumento pôde ser verificado

pelas maiores concentrações de triglicerídeos – acima dos valores de referência – como encontrado para as cabras neste estudo.

A diminuição das proteínas totais no plasma está relacionada com deficiência na alimentação, quando descartadas causas patológicas, tais como falhas hepáticas, transtornos renais e intestinais, parasitismos e hemorragias. Estima-se que dietas com menos de 10% de proteína causam diminuição dos níveis protéicos no sangue (Kaneko et al. 1997). A albumina é a principal proteína plasmática sintetizada no fígado, representando de 50 a 65% do total de proteínas séricas.

Baseando-se nestas informações, justificam-se então as respostas aqui obtidas. As concentrações de albumina, que corresponde a maior porcentagem do valor de proteínas totais, não foram alteradas dentre os tratamentos, indicando que a concentração de proteínas totais seguirá o mesmo comportamento. A albumina é uma proteína transportadora de ácidos graxos livres (González, 2002), e assim como os ácidos graxos não esterificados (ácidos graxos livres) não apresentaram alterações em suas concentrações, com a adição crescente de caroço de algodão, a albumina acompanhou este comportamento.

No entanto, segundo González (2002), para que ocorra a detecção de mudanças significativas na concentração de albumina sérica é necessário um período de pelo menos um mês, devido à baixa velocidade de síntese e de degradação.

4.3. Comportamento ingestivo

Animais confinados gastam em torno de uma hora consumindo alimentos ricos em energia, ou até mais de seis horas, para fontes com baixo teor de energia e alto em FDN. Da mesma forma, o tempo despendido em ruminação é influenciado pela natureza da dieta e, provavelmente, é proporcional ao teor de parede celular dos volumosos. Assim, quanto maior a participação de alimentos volumosos na dieta, maior será o tempo despendido com ruminação (Van Soest, 1994).

A eficiência de ruminação diminuiu devido ao fato do tempo despendido em ruminação ter aumentado e o consumo entre os tratamentos não ter sido alterado. À medida que se acrescentou o caroço na dieta total das cabras o tempo gasto ruminando aumentou linearmente, possivelmente devido ao efeito da maior quantidade de línter do caroço de algodão. Havartine et al. (2002) estudando a efetividade da fibra do caroço de algodão em substituição a silagem de alfafa concluíram que a FDN do caroço apresentou aproximadamente 84% da efetividade da FDN da silagem de alfafa; e que o uso de até 15% de

caroço de algodão na ração mantém a atividade ruminal em dietas com baixo conteúdo de FDN proveniente das forragens.

No presente estudo, todas as cabras receberam 55% de silagem de milho na dieta, ou seja, a quantidade de FDN forrageira fornecida para as cabras foi a mesma entre os tratamentos. Apesar de a quantidade de fibra não forrageira ter sofrido acréscimos com a adição de caroço de algodão na dieta, os percentuais de FDN ingerido foram de 32,1; 35,6; 32,5 e 33,5% da MS. A falta de processamento do caroço de algodão (quebra e retirada do linter), segundo Pires et al. (1997), ocasiona aumento nos teores de FDN fisicamente efetiva da dieta, forçando o animal a aumentar o número de mastigações por dia.

Apesar das características do linter serem positivas quanto a sua efetividade e qualidade da fibra, os animais ao consumirem o teor máximo de caroço que foi fornecido, consumiram a mesma quantidade de matéria seca, mas passaram maior tempo para ruminar este material ingerido.

O conceito de efetividade foi definido como a soma da habilidade total da FDN de um alimento derivado industrial em substituir a FDN de uma forragem, de maneira que a percentagem de gordura do leite seja mantida. Já a FDN_{pe} (FDN fisicamente efetiva) está relacionado com as características físicas do alimento, principalmente tamanho de partícula, que influenciam a atividade mastigatória e a estratificação do conteúdo ruminal - partículas maiores na porção superficial e partículas menores distribuídas mais ao fundo - (Mertens, 1997).

De acordo com Van Soest (1994), o tempo de ruminação é influenciado pela natureza da dieta e parece ser proporcional ao teor de parede celular dos volumosos despendido nos processos de mastigação e ruminação.

Alimentos volumosos com alto teor de parede celular tendem a aumentar o tempo de ruminação. A forma física da dieta influencia o tempo. O caroço de algodão é considerado como uma fonte de fibra não forrageira, podendo ser utilizado como volumoso na dieta, o que também justifica o aumento no tempo de ruminação com a inclusão do caroço.

Por ser considerado animal selecionador de alimentos concentrados e pastejador, ou seja, por selecionar naturalmente na planta, as partes em que há maior concentração de nutrientes, em detrimento de outras partes mais fibrosas, fisiologicamente, a cabra apresenta maior taxa de passagem das partículas do alimento pelo trato gastrointestinal (Carvalho et al. 2004). Dessa maneira, mesmo que as cabras tenham passado maior tempo selecionando ou

rejeitando o caroço na dieta, devido a esta característica de animal selecionador, o tempo de alimentação não diferiu entre as cabras.

4.4. Produção e composição do leite

No Brasil, os requisitos mínimos de qualidade do leite de cabra, segundo a Instrução Normativa N° 37 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2000), são os seguintes: 2,8% de proteína; 4,3% de lactose; 8,2% sólidos não gordurosos; e 0,7% de cinzas. O teor mínimo de gordura não é fixado, sendo admitidos valores inferiores a 2,9% mediante comprovação de que o teor médio de gordura de um determinado rebanho não atinge esse nível. Os resultados das análises químicas do leite encontrados neste trabalho estão dentro da faixa de valores recomendados pela legislação vigente no país (Tabelas 18 e 19).

A produção e a composição do leite em resposta a adição de caroço de algodão estão de acordo com estudos prévios feitos em vacas, cabras e ovelhas, demonstrando que a inclusão de fontes de lipídeos na dieta é capaz de aumentar o conteúdo de gordura, mas sem efeitos sobre o conteúdo de proteína e na produção de leite (Chilliard et al., 2003).

A produção de leite não foi afetada pelos tratamentos o que pode revelar que os ácidos graxos do caroço de algodão não alteraram o ambiente ruminal a ponto de interferir com a fermentação ou com seus micro-organismos. Dayani et al. (2007) relataram redução na população de protozoários em ovelhas que consumiram caroço de algodão, o que levou à redução na concentração de nitrogênio amoniacal do líquido ruminal. No presente trabalho não foram mensuradas as concentrações de nitrogênio amoniacal, entretanto, caso o caroço de algodão tivesse provocado um efeito negativo para o ambiente ruminal e para aqueles que o habitam, a produção de leite teria sido, da mesma forma, afetada, considerando que existe a possibilidade de se interferir com a concentração de nitrogênio amoniacal do líquido ruminal como relatado por Dayani et al. (2007).

Palmquist e Griinari (2006), trabalhando com bovinos, observaram que uma dieta com inclusão de óleo de girassol e óleo de peixe (3%) não implicou em efeitos negativos na fermentação ruminal. Trabalhando com ovelhas lactantes, Gómez-Cortés et al. (2008) encontraram que a suplementação com 6% na MS de óleo de soja, em dietas com alto concentrado, não afetou nos parâmetros de fermentação ruminal *in vitro*: produção de gás *invitro*, taxa de fermentação e degradação *invitro* da matéria orgânica.

Com base nos estudos acima, é possível sugerir que o ecossistema do rúmen parece ter sido mantido, mesmo com a adição de dietas ricas em óleo, e também que os micro-organismos podem adaptar-se rapidamente à suplementação e degradar a matéria seca normalmente.

A resposta de produção de leite também pode ter sido sustentada pela concentração similar da glicose sanguínea entre as cabras. A alta capacidade para a gliconeogênese é complementada pela alta prioridade da glândula mamária no uso da glicose. Durante períodos de alta demanda por glicose para a produção de leite, a utilização da glicose é primariamente reduzida nos tecidos não-mamários como muscular e adiposo, e a oxidação da glicose tem correlação negativa com o nível de produção de leite (Danfaer, 1994).

Talvez pudesse se pensar que a adição de caroço não levou à diminuição na produção de leite e no seu teor de gordura devido ao período em que os animais estiveram sob os efeitos do caroço de algodão. De acordo com (Lerch et al., 2012), os efeitos da suplementação com óleos de semente em curto prazo são similares àqueles observados a longo prazo. Pode-se considerar também a possibilidade da liberação do óleo ter sido mais gradual e uniforme, em função da degradação dos caroços pela mastigação/fermentação e também pelos movimentos misturadores do rúmen.

A concentração de triglicerídeos mostrou-se acima da normalidade em todos os tratamentos, ou seja, maior quantidade de triglicerídeos circulantes indica que maior foi o acréscimo destes pela glândula mamária. Conforme Chilliard e Ferlay (2004) a porção de triglicerídeos que serão capturados pela glândula mamária tem alta correlação com sua concentração sanguínea.

Da mesma forma, ainda segundo estes autores os ácidos graxos não-esterificados também são utilizados pela glândula mamária para a síntese de gordura do leite. Como já referido no texto, a concentração de ácidos graxos não-esterificados foi similar entre os tratamentos, mas contribuiu para a formação da gordura do leite de maneira semelhante entre os tratamentos.

Com relação à gordura do leite uma ponderação deve ser feita. Diferentemente do que acontece na maioria dos casos com as vacas, quando suplementadas com lipídeos, ou seja, uma diminuição do conteúdo de gordura do leite, as cabras não respondem da mesma forma à adição de lipídeos na dieta. A síndrome de depressão da gordura do leite, mais conhecida como MFD – *milk fat depression* do inglês – acomete as vacas de maneira mais recorrente do que as espécies caprina e ovina. Em cabras, o aumento dos ácidos graxos de cadeia longa

compensa a diminuição da concentração de ácidos graxos de cadeias curta e média, permitindo a manutenção dos teores de gordura dentro dos valores normais.

Muitas teorias já foram descritas para tentar explicar este fenômeno. Em sua revisão, Bauman e Griinari (2001) detalharam três teorias já adotadas pelos pesquisadores e trouxeram uma quarta teoria, mais recente e aceita na literatura. Esta última, chamada teoria da bio-hidrogenação, proposta por Bauman e Griinari (2003) sugere que em certas condições de dieta as vias de bio-hidrogenação ruminal sofrem alterações e produzem intermediários de ácidos graxos, alguns dos quais, são potentes inibidores da síntese da gordura do leite.

O ácido linoléico conjugado - CLA *trans*-10, *cis*-12 - foi o primeiro intermediário identificado e associado com a depressão da gordura do leite. Mas Bauman et al. (2011) afirmam que outros intermediários, entre eles *trans*-9, *cis*-11 CLA e *cis*-10, *trans*-12 CLA, também estão envolvidos neste processo.

Conforme Bernard et al. (2009) a glândula mamária de fêmeas da espécie caprina é menos sensível aos efeitos anti-lipogênicos dos intermediários da bio-hidrogenação se comparada com a espécie bovina, justificando, portanto, um maior relato de casos de depressão da gordura do leite nesta última espécie.

As cabras que receberam o caroço de algodão, independente do teor adicionado, responderam de forma positiva à suplementação, confirmando o que foi discutido acima. O extrato seco total seguiu a tendência da gordura do leite pelo fato de contabilizar a gordura, juntamente com os outros sólidos. Importância prática tem esse achado, dado que do extrato seco total fazem parte a gordura e as proteínas (caseínas) que são componentes da massa do queijo, influenciando, portanto, seu rendimento.

Contrário do que é observado em vacas, Chilliard et al. (2001) afirmaram que o fornecimento de lipídeos como suplemento para cabras no meio ou final de lactação não levam a um aumento na produção de leite, mas geram um acréscimo no conteúdo de gordura do leite. Em sua revisão Chilliard e Ferlay (2004) atestaram que mesmo com diferentes fontes de suplementos lipídicos, como ácidos graxos saturados, sais de cálcio, gordura animal, óleos vegetais, óleos de sementes, a resposta do percentual de gordura é semelhante.

Entretanto, a resposta do aumento no percentual de gordura do leite observado pode estar relacionada com o fato de as cabras da raça Toggenburg utilizadas neste estudo serem consideradas de baixa produção de leite, assim pode ter ocorrido menor diluição dos ácidos graxos no leite. O aumento de caroço de algodão na dieta imprimiu efeitos no teor de lactose,

fato também descrito por Costa et al. (2011) que trabalharam com caroço de algodão para vacas. A lactose é o nutriente mais estável do leite, portanto, é menos susceptível a alterações.

É provável que a expressão de genes relacionados com a síntese de lactose tenha sido alterada, dado que a concentração de glicose foi similar entre os tratamentos, como já abordado. A concentração de lactose está associada ao volume de leite produzido, uma vez que este componente é responsável pela pressão osmótica do leite (Cant et al., 1993).

5. Conclusão

As cabras respondem de maneira positiva a suplementação com o caroço de algodão, elevando o conteúdo de gordura do leite, sem apresentar alterações no consumo e na digestibilidade da matéria seca.

Capítulo II. Caroço de algodão para cabras leiteiras: perfil de ácidos graxos da gordura do leite

Resumo

O objetivo do presente experimento foi avaliar o potencial nutracêutico do caroço de algodão, no perfil de ácidos graxos do leite de cabras em lactação. O experimento foi conduzido na Granja Água Limpa e nas dependências do Campo Experimental José Henrique Bruschi, de propriedade da Embrapa Gado de Leite. As cabras foram distribuídas em dois quadrados latinos, 4 x 4, simultâneos, sendo quatro tratamentos e quatro períodos de 21 dias cada (14 dias para adaptação dos animais às dietas e sete dias para coleta de dados). Formularam-se dietas experimentais de modo a conterem teores de caroço de algodão iguais a 0; 12; 15 e 18 g.kg⁻¹, e relação volumoso:concentrado igual a 55:45, formando a Ração Totalmente Misturada (*Total Mixed Ration* - TMR). O perfil de ácidos graxos da gordura do leite foi determinado assim como os índices de qualidade nutricional dos lipídeos. Os ácidos graxos de cadeias curta e média apresentaram concentrações lineares decrescentes. Diferentemente, o 4:0 teve aumento crescente em suas concentrações. Somente o 16:0 é que não respondeu ao tratamento aplicado. Observou-se que, entre os ácidos graxos de cadeia longa, apenas o 18:0 apresentou comportamento quadrático. Os ácidos graxos *trans* 18:1, majoritariamente, exibiram resposta linear, enquanto que os ácidos *cis* 18:1, em sua totalidade, não demonstraram efeitos dos tratamentos aplicados. Entre os ácidos graxos poli-insaturados, alguns isômeros do 18:2 n-6 mostraram efeito linear crescente. Diversamente, os ácidos graxos poli-insaturados com 20 carbonos ou mais não tiveram alterações em suas concentrações devido a adição do caroço de algodão na dieta total. O total de ácidos graxos saturados, de CLA e o índice delta 14 não foram afetados pela inclusão crescente de caroço de algodão na dieta. Detectou-se efeito linear crescente para o total de mono e poli-insaturados, para os ácidos graxos 18:1, para o total de insaturados e de ômega 6. Similarmente, a relação de ácidos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (HH) aumentou com a inclusão do caroço de algodão às rações, assim como o total de ácidos graxos insaturados, o somatório de ácidos graxos de cadeia longa e a relação n6:n3 com a adição de caroço de algodão na dieta das cabras. O caroço de algodão melhorou o valor nutricional da gordura do leite de cabras.

Palavras-chave: caprinos, lácteos, lipídeos, nutracêutico, subproduto

1. Introdução

A pressão para reduzir o conteúdo total de gordura nos produtos derivados do leite, e também seu grau de saturação existe e é constantemente apelada pelos nutricionistas, médicos e por segmento da população consumidora de produtos de origem animal. Esta situação acaba gerando interesse em manipular as propriedades da gordura do leite, pelo acréscimo na concentração de ácidos graxos com efeitos benéficos à saúde humana.

A manipulação da composição dos ácidos graxos do leite é sugerida no sentido de se reduzir a quantidade de ácidos graxos saturados, e aumentar, principalmente a de mono-insaturados, mas também obter maior proporção de ácidos graxos poli-insaturados.

O teor de gordura e sua composição em ácidos graxos no leite são fáceis de serem manipulados pela dieta, em comparação com a lactose e proteína. A utilização mais intensiva de lipídios nas rações pode contribuir para maior deposição de gordura na carcaça e maior concentração de sólidos totais no leite e por consequência nos produtos lácteos.

Atualmente, a suplementação tem sido feita mais no sentido de aumentar a quantidade do ácido linoleico conjugado (CLA) na carne ou no leite, como sendo um agente importante na prevenção do câncer, infarto e outras moléstias em humanos (Mir et al. 1999).

Uma das características mais interessantes em relação ao leite de cabras tem a ver com a natureza da sua gordura. O leite desta espécie contém grande quantidade de ácidos graxos de cadeia média - caprílico, caprótico e cáprico, principalmente, os quais têm sido associados à terapêutica de algumas doenças metabólicas em humanos (Haenlein, 2004). Além disso, o gordura do leite é um componente tecnológico importante, pois está associada ao rendimento do queijo, sua firmeza, e também na cor e sabor do produto acabado. Com base nestas características, o estudo dos lipídios e suas propriedades, têm sido cada vez mais incentivados.

A magnitude com que as mudanças no perfil de ácidos graxos ocorrem é controlada por vários fatores, dentre eles, a fonte e a quantidade de lipídeos incluídos na dieta, a bio-hidrogenação dos ácidos graxos pelos micro-organismos ruminais, a captação e o uso de ácidos graxos insaturados pela glândula mamária estão entre os principais.

O objetivo do presente experimento foi avaliar o potencial nutracêutico do caroço de algodão, em inclusões de 12, 15 e 18 g.kg⁻¹ da matéria seca na dieta total, no perfil de ácidos graxos do leite de cabras em lactação.

2. Material e métodos

2.1. Animais e Local do experimento

O experimento foi conduzido na Granja Água Limpa e nas dependências do Campo Experimental José Henrique Bruschi, de propriedade da Embrapa Gado de Leite, localizado no município de Coronel Pacheco/MG e da Escola de Veterinária da UFMG, em Belo Horizonte/MG. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no uso de Animais – CEUA/CNPGL 07/2013.

Foram utilizadas oito cabras da raça Toggenburg, multíparas, com média de 50 dias em lactação ao início do ensaio, produzindo 1,61 kg de leite pesando 51,5kg em média.

Os animais foram alojados em baias individuais (3 m²) com piso ripado com comedouros e bebedouros individuais.

2.1.1. Dietas experimentais e procedimentos de alimentação

Os tratamentos consistiram na suplementação dos animais com caroço de algodão em quatro teores: não suplementados (controle); 120; 150; e 180 g.kg⁻¹ MS. As dietas foram calculadas para fornecer 2,69 Mcal.Kg⁻¹ de energia metabolizável e 9,13% de proteína metabolizável.

As dietas experimentais (tratamentos) foram formuladas com base nas exigências nutricionais estabelecidas pelo NRC (2007) para essa categoria animal, de modo a conterem teores de caroço de algodão iguais a 0; 120; 150 e 180 g.kg⁻¹, e relação volumoso:concentrado igual a 55:45, em base de matéria seca (MS).

A dieta foi composta por silagem de milho como único volumoso, o qual foi fornecido misturado a um concentrado composto por milho moído, farelo de soja, caroço de algodão, calcário calcítico e fosfato bicálcico (Tabela 2), formando a Ração Totalmente Misturada (*Total Mixed Ration* - TMR). Os ingredientes que compuseram o concentrado foram misturados com uso de um misturador vertical, com capacidade para 500 kg. A mistura dos ingredientes da TMR foi realizada manualmente em um vasilhame com capacidade aproximada de 15 kg. Na Tabela 3 está descrita a composição química dos ingredientes dietéticos.

As refeições foram ofertadas aos animais às 7h e às 16h, logo após a ordenha da manhã e da tarde, na forma de mistura completa, fornecidas de modo ter sobra entre 10 e 15% do ofertado na base seca. A silagem utilizada foi produzida na propriedade, o silo era aberto todos os dias por volta das 10 h da manhã, e a silagem ficava estocada em tonéis de plástico com capacidade para 100 L. Esta silagem era pesada na manhã seguinte para ser fornecida aos animais. O preparo dos concentrados era realizado com os ingredientes disponíveis, sendo que o caroço de algodão foi adquirido no mercado local.

Tabela 15. Ingredientes das dietas experimentais originalmente estabelecidas com base na matéria seca (g.kg⁻¹)

Ingredientes, g.kg ⁻¹	Tratamentos			
	0 g.kg ⁻¹	120 g.kg ⁻¹	150 g.kg ⁻¹	180 g.kg ⁻¹
Milho Silagem	550,0	550,0	550,0	550,0
Algodão Caroço	0,0	120,0	150,0	180,0
Milho fubá	282,3	186,3	163,2	140,0
Soja farelo	140,7	101,2	91,2	80,0
Min-Caprinos ¹	10,0	10,0	10,0	10,0
Calcário	4,0	21,7	25,5	29,0
Fosfato bicálcico	7,8	5,5	4,9	4,3
Sal comum	5,0	5,0	5,0	5,0

¹Min-Caprinos: Caprinofós

Tabela 16. Composição química das dietas ingredientes com base na matéria seca (g.kg⁻¹)

Nutrientes	Ingredientes			
	Milho fubá	Soja farelo	Algodão Caroço	Milho Silagem
ASE ¹	877	878	906	881
MO ²	864,7	808	862,4	817
MM ³	12,3	70	43,6	64
EE ⁴	336	46	189	108
FDA ⁵	51,9	78,8	337,7	292
FDN ⁶	139	135	418,9	488
LDA ⁷	22,9	0	82,9	33,9
PB ⁸	71,5	481,3	234,3	75,9
PB-FDA ⁹	1,9	5,4	18,2	7,3
PB-FDN ¹⁰	8,1	17,6	53,8	16,6
CNF ¹¹	441,2	267,7	114,2	264,1
CHOT ¹²	580,2	402,7	533,1	752,1

¹amostra seca em estufa; ²matéria orgânica; ³matéria mineral; ⁴ extrato etéreo; ⁵fibra em detergente ácido; ⁶fibra em detergente neutro; ⁷ lignina em detergente ácido; ⁸proteína bruta; ⁹proteína ligada à fibra em detergente ácido; ¹⁰proteína ligada à fibra em detergente neutro; ¹¹carboidratos não fibrosos; ¹² carboidratos totais

2.2. Perfil de ácidos graxos, razões e índices de ácidos graxos do leite caprino

Em cada período foram obtidas amostras individuais de leite cabras, em frascos plásticos de 50 mL sem conservante. Estas amostras foram congeladas e armazenadas (-10°C) visando à posterior determinação do perfil de ácidos graxos no Laboratório de Cromatografia da Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, MG).

No dia do preparo, as amostras de leite foram descongeladas e homogeneizadas. O processo de extração lipídica baseou-se no procedimento proposto pela AOAC (*Official Method* 985.05). Em 1,0 mL de amostra foram adicionados hidróxido de amônio 25%, etanol 94%, dietil-éter e hexano. A fase superior contendo a gordura ($\simeq$ 20 mg) foi transferida para outro tubo de ensaio e evaporada completamente com a utilização de fluxo de gás nitrogênio.

Durante a obtenção dos ácidos graxos metil-éster, que ocorreu por transmetilação alcalina, de acordo com Christie (1982) com modificações (Chouinard *et al.*, 1999), foram utilizados 40 μ L de solução reagente recém-preparada (1,75 mL de metanol e 0,4 mL de metóxido de sódio – MeONa). Em seguida, o conteúdo foi neutralizado pela adição de solução de ácido oxálico (1,0 g de ácido oxálico em 30 mL de dietil-éter), os resíduos de metanol e água foram retirados pela adição de 200 mg de cloreto de cálcio. A obtenção dos ácidos graxos metil-éster foi realizada conforme descrito por Ribeiro *et al.* (2014), em cromatógrafo de fase gasosa modelo 6890N (Agilent Technologies Inc., EUA) equipado com coluna CP-Sil 88 FAME 100 m x 0,25 mm x 0,2 μ m (Varian Inc., EUA) e detector de ionização de chama, com condições de operação descritas por Cruz-Hernandez *et al.* (2007).

A concentração de cada AG presente nas amostras – expressa em g/100 g de AG totais – foi calculada a partir da multiplicação da relação das suas áreas sob as curvas (picos) em relação à área total do cromatograma (%) pela produção diária de gordura total. As concentrações dos ácidos graxos de cadeia carbônica par de 4 a 18 foram corrigidas por fatores de conversão segundo Wolff *et al.* (1995).

Os índices de qualidade nutricional dos lipídeos serão determinados a partir do conteúdo de ácidos graxos analisados, assim sendo os ácidos graxos insaturados (AGI) foram estimados pela soma dos ácidos graxos mono (AGMI) e poliinsaturados (AGPI) e os ácidos graxos desejáveis (AGD) pela soma dos ácidos graxos insaturados com o ácido esteárico.

A relação de ácidos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (HH) foi obtida pela equação, conforme Ulbricht e Southgate (1991):

$$HH = (C18:1\ c9 + C18:3\ c9,12,15 + C20:5\ n3 + C22:6\ n3) / C12:0 + C14:0 + C16:0$$

O índice de aterogenicidade (IA) será dado pela equação, conforme Ulbricht e Southgate (1991):

$$IA = [C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0] / (\Sigma AGMI + \Sigma n6 + \Sigma n3)$$

e o índice de trombogenicidade (IT) pela equação, conforme Ulbricht e Southgate (1991):

$$IT = (14:0 + 16:0 + 18:0) / [(0,5 \times \Sigma AGMI) + (0,5 \times \Sigma n6 + (3 \times \Sigma n3) + \left(\frac{\Sigma n3}{\Sigma n6}\right)]$$

Com o objetivo de facilitar a interpretação do comportamento de síntese e secreção de alguns ácidos graxos chave, foram calculados alguns somatórios e relações entre eles. Essas relações estão apresentadas a seguir:

Σ CLA: Somatório dos ácidos linoleicos conjugados (CLA) *cis*-9 *trans*-11 + *trans*-7 *cis*-9; CLA *trans*-9 *cis*-11 e CLA *trans*-10 *cis*-12;

Σ Saturados de Cadeia Curta, Média, Longa e Total: Somatório dos ácidos graxos saturados de cadeia carbônica curta (4 a 10 carbonos), média (12 a 16 carbonos), longa (≥ 18 carbonos) e da soma de todos eles, respectivamente;

Σ Poli-insaturados: Somatório dos ácidos graxos poli-insaturados com ligações (*cis*, *cis*) nas posições ω -3 e ω -6;

Σ C18 ω -6 *trans*: Somatório dos ácidos graxos de cadeia carbônica igual a 18 com saturações *trans* na posição ω -6;

ω -6: ω -3: Relação entre o somatório dos ácidos graxos ω -6 e o somatório dos ácidos graxos ω -3;

Delta 14, 18 e relação vacênico:rumênico: Relação calculada a partir da divisão dos ácidos graxos monoinsaturados *cis*-9 pelos seus isômeros saturados, permitindo, assim, verificar o grau de atividade e seletividade de substrato pela enzima Δ 9-desaturase;

2.3. Delineamento experimental e análise dos dados

As cabras foram distribuídas em dois quadrados latinos, 4 x 4, simultâneos, sendo quatro tratamentos e quatro períodos de 21 dias cada (14 dias para adaptação dos animais às dietas e sete dias para coleta de dados), totalizando 84 dias. As pesagens dos animais foram feitas na parte da manhã, antes da ordenha, com jejum prévio. Os animais foram pesados no primeiro e último dia de cada período de tratamento.

Os dados relativos ao perfil de ácidos graxos foram ajustados ao seguinte modelo estatístico (Tempelman, 2004):

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + c_j + \beta_k + \pi_l + \alpha c \beta \pi_{ijkl} + e_{ijkl} \quad \text{Eq (x)}$$

No qual Y_{ijkl} corresponde à observação referente ao j -ésima cabra que recebeu o i -ésimo tratamento no k -ésimo período alocado no l -ésimo quadrado latino. μ é o efeito de intercepto e α_i , β_k e π_l representam os efeitos fixos do i -ésimo nível de inclusão de caroço de algodão ($i= 0, 12, 15$ e 18% de inclusão), k -ésimo ($k=1, 2, 3$ e 4) e do l -ésimo quadrado latino (1 e 2), respectivamente. c_j representa o efeito aleatório da j -ésima cabra ($j=1, 2, \dots, 7$ e 8). Este modelo é uma generalização de uso do quadrado latino balanceado proposto por Lucas (1957). A unidade experimental foi considerada a interação quadrupla (*subject* = *quadrado latino* $\times$ *período* $\times$ *tratamento* $\times$ *animal*), sendo essa interação considerada como efeito aleatório com a matriz de variância e covariância modelada como componente de variância σ^2 (*Type* = *VC*) (Littell et al., 2006). e_{ijkl} foi considerado o efeito aleatório.

A Eq (x) foi ajustada utilizando o procedimento de modelo linear misto (PROC MIXED) do SAS (versão 9.4), sendo método de estimação utilizado o de máxima verossimilhança.

Hipóteses nulas quanto aos tratamentos, e seus efeitos linear, quadrático e cúbico foram rejeitados quando $p < 0,05$. Para regressões significativas, os intervalos de confiança estimados a 95% (IC 95%) foram apresentados como se segue: $\hat{y}_x(L_{inf}; L_{sup})$; onde $\hat{y}_x$ é a variável dependente predita para um dado nível de inclusão de caroço de algodão, x ; L_{inf} e L_{sup} são os limites inferior e superior, respectivamente, do IC de 95%. Para as variáveis que apresentaram ausência de efeitos de tratamento, o IC de 95% para as médias de mínimos quadrados da variável dependente em cada nível de inclusão de caroço de algodão ($\bar{y}_x$) foi fornecido da seguinte forma: $\bar{y}_x(L_{inf}; L_{sup})$. Uma aproximação do IC de 99% foi estimada para X_m como ponto de máximo ou mínimo do ajuste do polígono quadrático de acordo com Neter e Wasserman (1974).

3. Resultados

Tabela 17. Composição química e NDT estimado das dietas experimentais com base na matéria seca (g.kg⁻¹)

Composição química (g.kg ⁻¹)	Dietas			
	0 g.kg ⁻¹	120 g.kg ⁻¹	150 g.kg ⁻¹	180 g.kg ⁻¹
ASE ¹	896	904	895	895
MO ²	827	830	824	816
EE ³	12,9	103	154	281
FDN ⁴	317	359	399	362
FDA ⁵	177	222	248	219
PB ⁶	148	145	143	145
PB-FDA ⁷	7,1	7,9	8,0	7,7
PB-FDN ⁸	19,0	17,6	19,6	16,6
LDA ⁹	24,6	38,8	41,3	34,9
MM ¹⁰	69	74	71	79
NDT (NRC 2001) ¹¹	733,51	816,22	871,95	913,91

¹amostra seca em estufa; ²matéria seca; ³extrato etéreo; ⁴fibra em detergente neutro; ⁵fibra em detergente ácido; ⁶proteína bruta; ⁷proteína ligada à fibra em detergente ácido; ⁸proteína ligada à fibra em detergente neutro; ⁹lignina; ¹⁰matéria mineral e ¹¹nutrientes digestíveis totais.

3.1. Ácidos graxos saturados de cadeias curta e média

Os ácidos graxos 6:0, 11:0, 12:0, 14:0, 15:0 e 17:0 apresentaram concentrações lineares decrescentes. Diferentemente, o 4:0 teve aumento crescente em suas concentrações. Já as concentrações de 8:0 e 10:0 comportaram-se de maneira quadrática em relação aos teores de caroço de algodão na dieta. Somente o 16:0 não respondeu ao tratamento aplicado.

Tabela 18. Médias e intervalos de confiança das concentrações de ácidos graxos saturados de cadeias curta e média presentes no leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total

AG (mg/100 g)	Médias - IC 95%				P valores		
	0 g/kg	120 g/kg	150 g/kg	180 g/kg	L	Q	C
4:0	2,97 (2,80;3,15)	3,18 (3,05;3,31)	3,24 (3,10;3,37)	3,29 (3,14;3,44)	0,0029	0,2742	0,8709
5:0	0,0137 (0,009;0,0179)	0,0137 (0,009;0,0179)	0,019 (0,014;0,023)	0,015 (0,010;0,019)	0,2689	0,9015	0,0193
6:0	2,83 (2,72;2,95)	2,64 (2,56;2,72)	2,59 (2,50;2,67)	2,54 (2,44;2,63)	0,0003	0,158	0,6163
7:0	0,028 (0,020;0,034)	0,024 (0,017;0,031)	0,028 (0,020;0,035)	0,026 (0,019;0,034)	0,6722	0,4304	0,327
8:0	3,26 (3,04;3,48)	2,13 (1,61;2,66)	1,85 (1,20;2,50)	1,57 (0,78;2,36)	<,0001	0,0289	0,4206
9:0	0,062 (0,047;0,077)	0,054 (0,041;0,066)	0,052 (0,039;0,065)	0,050 (0,036;0,063)	0,0633	0,9031	0,3576
10:0	10,46 (9,51;11,42)	5,79 (3,64;7,93)	4,62 (1,97;7,27)	3,45 (0,27;6,62)	<,0001	0,0365	0,2103
11:0	0,090 (0,070;0,109)	0,070 (0,053;0,088)	0,066 (0,048;0,084)	0,061 (0,043;0,081)	0,0005	0,0893	0,6651
12:0	4,62 (4,09;5,15)	3,28 (2,83;3,73)	2,95 (2,48;3,41)	2,61 (2,12;3,10)	<,0001	0,0564	0,1841
14:0	9,17 (8,40;9,94)	7,19 (6,60;7,77)	6,69 (6,08;7,31)	6,20 (5,53;6,87)	<,0001	0,3511	0,1277
15:0	0,80 (0,72;0,87)	0,66 (0,61;0,70)	0,62 (0,57;0,67)	0,59 (0,53;0,65)	0,0002	0,3353	0,7962
16:0	22,86 (21,61;24,12)	22,95 (21,70;24,20)	22,70 (21,37;24,04)	22,40 (21,06;23,74)	0,6705	0,603	0,9802

3.2. Ácidos graxos saturados de cadeia longa

Observou-se que entre os ácidos graxos de cadeia longa, apenas o 18:0 apresentou comportamento quadrático em resposta a suplementação com o caroço. Não foi evidenciado efeito dos tratamentos nas concentrações dos ácidos graxos 21:0, 22:0, 23:0 e 24:0 (Tabela 19).

Tabela 19. Médias e intervalos de confiança das concentrações de ácidos graxos saturados de cadeia longa presentes no leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total

AG (mg/100 g)	Médias - IC 95%				P valores		
	0 g/kg	120 g/kg	150 g/kg	180 g/kg	L	Q	C
18:0	11,05 (9,35;12,75)	24,65 (19,44;29,85)	28,05 (21,47;34,62)	31,45 (23,48;39,42)	<,0001	0,0056	0,0372
20:0	0,20 (0,18;0,21)	0,21 (0,19;0,23)	0,21 (0,19;0,22)	0,19 (0,18;0,21)	0,5591	0,0518	0,9195
21:0	0,027 (0,023;0,031)	0,025 (0,020;0,029)	0,024 (0,019;0,028)	0,026 (0,021;0,030)	0,3025	0,5383	0,7116
22:0	0,029 (0,024;0,033)	0,032 (0,028;0,037)	0,033 (0,028;0,038)	0,028 (0,023;0,034)	0,521	0,0921	0,4865
23:0	0,02 (0,0007;0,03)	0,02 (0,00324;0,04)	0,02 (-0,00031;0,04)	0,04 (0,02;0,06)	0,2548	0,2124	0,3773
24:0	0,013 (0,008;0,018)	0,012 (0,007;0,017)	0,014 (0,008;0,019)	0,017 (0,012;0,023)	0,5119	0,2541	0,9764

3.3. Ácidos graxos mono-insaturados

Os ácidos graxos *trans* 18:1, majoritariamente, exibiram resposta linear crescente, dentre estes um importante ácido graxo o *trans*11 18:1, enquanto que os ácidos *cis* 18:1, em sua totalidade, não demonstraram efeitos dos tratamentos aplicados. Contrariamente, os ácidos 14:1 e 17:1 evidenciaram comportamento quadrático em relação aos teores crescentes de caroço na dieta total.

Tabela 20. Médias e intervalos de confiança das concentrações de ácidos graxos saturados de cadeia longa presentes no leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total

AG (mg/100 g)	Médias - IC 95%				P valores		
	0 g/kg	120 g/kg	150 g/kg	180 g/kg	L	Q	C
10:1c9	0,18 (0,16;0,20)	0,02 (-0,031;0,077)	-0,016 (-0,084;0,051)	-0,055 (-0,137;0,026)	<,0001	0,0043	0,115
14:1c9	0,083 (0,072;0,093)	0,013 (-0,018;0,045)	-0,003 (-0,04;0,03)	-0,021 (-0,070;0,028)	<,0001	0,0286	0,2444
17:1c9	0,198 (0,164;0,232)	0,070 (-0,010;0,151)	0,038 (-0,062;0,139)	0,006 (-0,115;0,128)	0,0125	0,0242	0,4746
18:1t4	0,017 (0,014;0,021)	0,025 (0,022;0,027)	0,026 (0,024;0,029)	0,028 (0,025;0,030)	0,0002	0,40002	0,0173
18:1t5	0,016 (0,013;0,019)	0,019 (0,017;0,022)	0,020 (0,018;0,026)	0,021 (0,018;0,024)	0,007	0,8168	0,4895
18:1t6-t8	0,19 (0,16;0,22)	0,22 (0,19;0,24)	0,22 (0,19;0,25)	0,23 (0,20;0,26)	0,0085	0,0908	0,1625
18:1t9	0,18 (0,16;0,21)	0,20 (0,18;0,22)	0,21 (0,19;0,23)	0,21 (0,19;0,24)	0,0186	0,6139	0,3923
18:1t10	0,21 (0,17;0,26)	0,27 (0,22;0,32)	0,29 (0,24;0,34)	0,25 (0,20;0,30)	0,0893	0,2057	0,3426
18:1t11	0,80 (0,54;1,05)	1,22 (1,02;1,43)	1,33 (1,11;1,55)	1,44 (1,21;1,67)	<,0001	0,2368	0,0832
18:1t12	0,24 (0,19;0,29)	0,29 (0,26;0,33)	0,31 (0,27;0,35)	0,32 (0,28;0,37)	0,0101	0,1401	0,2468
18:1t13,14	0,25 (0,22;0,32)	0,31 (0,25;0,36)	0,29 (0,23;0,34)	0,29 (0,24;0,34)	0,3136	0,3945	0,5466
18:1c9	18,83 (17,36;20,31)	18,76 (17,28;20,23)	18,81 (17,26;20,36)	20,18 (18,63;21,73)	0,2814	0,1112	0,4507
18:1c11	0,48 (0,41;0,56)	0,44 (0,37;0,52)	0,47 (0,39;0,55)	0,48 (0,41;0,56)	0,7593	0,2958	0,7854
18:1c12	0,17 (0,14;0,21)	0,21 (0,17;0,25)	0,19 (0,15;0,23)	0,20 (0,17;0,24)	0,1246	0,525	0,4492
18:1c13	0,04 (0,03;0,05)	0,04 (0,03;0,05)	0,04 (0,03;0,05)	0,05 (0,04;0,06)	0,103	0,1312	0,6728
20:1c11	0,04 (0,03;0,04)	0,03 (0,03;0,04)	0,03 (0,03;0,04)	0,03 (0,03;0,04)	0,0422	0,3481	0,7886

3.4. Ácidos graxos poli-insaturados

Entre os ácidos graxos poli-insaturados, alguns isômeros do 18:2 n-6, como o *cis*-9, *cis*-12, foram afetados linear e positivamente com a inclusão de caroço de algodão nas rações das cabras leiteiras. Diversamente, os ácidos graxos poli-insaturados com 20 carbonos ou mais não tiveram alterações em suas concentrações devido à adição do caroço de algodão na dieta. É preciso chamar atenção para a tendência ao aumento linear crescente no conteúdo do 18:2 *cis* 9, *trans* 11, um ácido graxo com potencial nutracêutico.

Tabela 21. Médias e intervalos de confiança das concentrações de ácidos graxos saturados de cadeia longa presentes no leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total

AG (mg/100 g)	Médias - IC 95%				P valores		
	0 g/kg	120 g/kg	150 g/kg	180 g/kg	L	Q	C
18:2 c9t11	0,39 (0,31;0,46)	0,43 (0,35;0,51)	0,43 (0,35;0,52)	0,46 (0,38;0,55)	0,0576	0,7156	0,738
18:2 t9c11	0,012 (0,009;0,015)	0,012 (0,009;0,015)	0,011 (0,007;0,015)	0,014 (0,010;0,017)	0,7404	0,4613	0,41
18:2 t10c12	0,002 (-0,001;0,006)	0,003 (-0,00;0,008)	0,004 (-0,000;0,008)	0,004 (-0,000;0,008)	0,4844	0,9663	0,9244
18:2 t11c13	0,01 (0,007;0,012)	0,007 (0,004;0,010)	0,01 (0,007;0,012)	0,01 (0,007;0,012)	0,8662	0,1853	0,3717
18:2 n6 t9t12	0,018 (0,012;0,022)	0,02 (0,015;0,025)	0,02 (0,015;0,025)	0,014 (0,009;0,019)	0,7986	0,0935	0,4656
18:2n6 c9t12	0,03757 (0,03137;0,04376)	0,03768 (0,03432;0,04103)	0,03770 (0,03385;0,04156)	0,03773 (0,03297;0,04249)	0,0119	0,5069	0,5614
18:2 n6 t9c12	0,027 (0,019;0,033)	0,024 (0,016;0,031)	0,021 (0,013;0,029)	0,028 (0,020;0,036)	0,6884	0,2662	0,3927
18:2n6 c9c12	2,22 (1,93;2,51)	2,57 (2,40;2,73)	2,65 (2,47;2,84)	2,74 (2,51;2,97)	0,0119	0,5069	0,5614
18:3n6 6, 9, 12	0,038 (0,032;0,044)	0,033 (0,028;0,038)	0,032 (0,027;0,038)	0,031 (0,025;0,037)	0,0314	0,6413	0,5601
18:3n c9, 12, 15	0,14 (0,12;0,15)	0,12 (0,10;0,13)	0,11 (0,09;0,12)	0,11 (0,09;0,12)	0,0013	0,6693	0,3774
20:2 c11,14	0,011 (0,007;0,014)	0,012 (0,008;0,016)	0,011 (0,007;0,015)	0,013 (0,008;0,016)	0,6041	0,9891	0,5634
20:3n6 c8,11,14	0,025 (0,019;0,030)	0,024 (0,019;0,028)	0,023 (0,017;0,022)	0,027 (0,021;0,032)	0,8322	0,255	0,4846
20:4n6	0,26 (0,23;0,29)	0,16 (0,07;0,24)	0,13 (0,02;0,24)	0,10 (-0,02;0,24)	0,4375	0,0456	0,8167
20:5n5 EPA	0,015 (0,009;0,020)	0,015 (0,009;0,02)	0,013 (0,007;0,018)	0,017 (0,011;0,022)	0,7704	0,4298	0,3259
22:5n3	0,042 (0,036;0,048)	0,036 (0,030;0,042)	0,035 (0,029;0,042)	0,041 (0,035;0,048)	0,351	0,0906	0,5303

3.5. Ácidos graxos de cadeia ímpar e ramificada

Somente o 18:0 *iso* sofreu efeito linear crescente com a inclusão do caroço na dieta. Os ácidos *iso* 14:0, 15:0, 16:0 não responderam aos tratamentos aplicados, da mesma forma, o *anteiso* 15:0. Os ácidos 16:1t9+c17:0 *iso* somados foram positivamente afetados de forma linear, enquanto que 16:1c9+c17:0 *anteiso* foram negativamente afetados de forma linear. A co-eluição entre os dois ácidos faz com que a interpretação das concentrações dos ácidos 17:0 *iso* e *anteiso* na gordura do leite seja realizada com cautela.

Tabela 22. Médias e intervalos de confiança das concentrações de ácidos graxos de cadeia ímpar e ramificada presentes no leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total

AG (mg/100 g)	Médias - IC 95%				P valores		
	0	120 g/kg	150 g/kg	180 g/kg	L	Q	C
14:0 <i>iso</i>	0,1025 (0,07962;0,1254)	0,08625 (0,06337;0,1091)	0,09087 (0,06648;0,1153)	0,108 (0,08362;0,1324)	0,8497	0,109	0,7792
15:0 <i>iso</i>	0,2187 (0,1572;0,2803)	0,25 (0,1884;0,3116)	0,2643 (0,1985;0,3302)	0,21 (0,1442;0,2759)	0,7164	0,2536	0,4506
15:0 <i>anteiso</i>	0,386 (0,3261;0,4458)	0,3105 (0,267;0,3541)	0,2917 (0,2454;0,3379)	0,2728 (0,2214;0,3243)	0,0027	0,2365	0,8376
16:0 <i>iso</i>	0,2662 (0,1917;0,3408)	0,29 (0,2155;0,3645)	0,2008 (0,1218;0,2798)	0,2551 (0,1761;0,3341)	0,5426	0,6893	0,0727
16:1t9+c17:0 <i>iso</i>	0,4404 (0,3981;0,4827)	0,483 (0,4547;0,5113)	0,4937 (0,463;0,5243)	0,5043 (0,4692;0,5394)	0,0199	0,815	0,1043
16:1c9+c17:0 <i>anteiso</i>	0,9118 (0,8123;1,0113)	0,419 (0,1679;0,67)	0,2958 (-0,0182;0,6097)	0,1725 (-0,2056;0,5507)	0,0039	0,0073	0,6243
17:0	0,4648 (0,435;0,4945)	0,439 (0,4199;0,4582)	0,4326 (0,4116;0,4536)	0,4262 (0,4019;0,4505)	0,047	0,0632	0,9712
18:1 <i>iso</i>	0,06713 (0,05889;0,07538)	0,07663 (0,0708;0,08246)	0,079 (0,07276;0,08523)	0,08137 (0,07436;0,08838)	0,0066	0,3299	0,8525

3.6. Razões e índices de ácidos graxos

O total de ácidos graxos saturados, de CLA não foi afetado pela inclusão crescente de caroço de algodão na dieta. Foi observado um efeito linear crescente para o total de mono e poli-insaturados, para o total de insaturados e de ômega 6. A relação dos ácidos graxos saturados e insaturados, o total de ômega 3, o índice de aterogenicidade (IA), os ácidos graxos de cadeia curta diminuíram linearmente com a adição de caroço de algodão na dieta das cabras.

Tabela 23. Médias e intervalos de confiança de razões e índices de ácidos graxos do leite de cabras alimentadas com teores crescentes de caroço de algodão na dieta total

Variáveis	Médias - IC 95%				P valores		
	0	120 g/kg	150 g/kg	180 g/kg	L	Q	C
Total saturado	67,6487(65,9009;69,3966)	67,615(65,8672;69,3628)	67,2172(65,356;69,0783)	65,38(63,5189;67,24)	0,146	0,1024	0,5952
Total insaturado	24,7345(23,2404;26,2287)	26,1284(24,9939;27,2629)	26,4769(25,2828;27,6709)	26,8253(25,5161;28,1346)	0,0151	0,2865	0,8367
Total monoinsaturado	22,4875(20,9526;24,0224)	22,9638(21,4289;24,4986)	23,3802(21,763;24,9974)	24,513(22,8959;26,1302)	0,046	0,200	0,7437
Total poli-insaturado	2,4319(2,1333;2,7306)	2,7526(2,5804;2,9247)	2,8327(2,6386;3,0268)	2,9129(2,6786;3,1472)	0,0226	0,5527	0,6091
Sat:Insat ¹	2,77(2,5679;2,9721)	2,5834(2,432;2,7347)	2,5367(2,3769;2,6965)	2,49(2,314;2,6661)	0,0176	0,218	0,6979
AGCC ²	19,5957(18,3982;20,7932)	16,6247(15,6538;17,5956)	15,8819(14,874;16,8899)	15,1392(14,0585;16,2199)	<,0001	0,0388	0,2363
AGCM ³	40,5142(38,7269;42,3015)	36,5107(35,4169;37,6045)	35,5098(34,297;36,7226)	34,5089(33,0754;35,9425)	<,0001	0,5909	0,4017
AGCL ⁴	38,445(35,8325;41,0575)	45,2404(43,3364;47,1444)	46,9393(44,9173;48,9612)	48,6381(46,3893;50,8869)	<,0001	0,1335	0,1756
Tomega6 ⁵	2,6183(2,3264;2,9103)	2,9494(2,7868;3,1119)	3,0322(2,847;3,2173)	3,1149(2,8887;3,3411)	0,0096	0,3059	0,3127
Tomega3 ⁶	0,194(0,1737;0,2143)	0,1699(0,1571;0,1826)	0,1638(0,1498;0,1779)	0,1578(0,1413;0,1743)	0,0182	0,6865	0,6152
CLA ⁷	0,405(0,3258;0,4842)	0,4412(0,3621;0,5204)	0,4513(0,3683;0,5344)	0,4856(0,4026;0,5687)	0,0642	0,5752	0,7886
delta14	0,01004(0,007471;0,0126)	0,007059(-0,00104;0,01516)	0,006315(-0,00394;0,01657)	0,005571(-0,00687;0,01801)	0,0018	0,0275	0,2857
delta18	1,706(1,5675;1,8445)	0,4251(0,01063;0,8396)	0,1049(-0,4185;0,6283)	-0,2153(-0,8491;0,4184)	0,0001	0,0038	0,0373
V:R ⁸	0,5159(0,4705;0,5613)	0,2022(0,07654;0,3279)	0,1238(-0,03428;0,2818)	0,04535(-0,1456;0,2363)	<,0001	0,0478	0,0483
n6:n3 ⁹	13,4236(11,6224;15,2248)	17,6729(16,6645;18,6813)	18,7352(17,5885;19,882)	19,7976(18,3993;21,1959)	<,0001	0,4068	0,1421
HH ¹⁰	0,667(0,5962;0,7378)	0,7464(0,7013;0,7915)	0,7663(0,7168;0,8157)	0,7861(0,7285;0,8438)	0,0131	0,3603	0,9424
IA ¹¹	2,5985(2,3645;2,8325)	2,105(1,934;2,2759)	1,9816(1,8001;2,163)	1,8582(1,6566;2,0598)	<,0001	0,9686	0,5247
IT ¹²	3,2866(3,0606;3,5126)	4,2718(3,568;4,9756)	4,5181(3,6278;5,4084)	4,7644(3,6852;5,8436)	0,4164	0,0208	0,3104

¹relação entre total de saturados e insaturados; ² ácidos graxos de cadeia curta, ³ácidos graxos de cadeia media; ⁴ ácidos graxos de cadeia longa; ⁵total omega-6, ⁶total omega-3; ⁷total CLA; ⁸relação vacênico:rumenico; ⁹relação entre total omega-6 e de total omega-3; ¹⁰ácidos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos; ¹¹índice de aterogenicidade; ¹²índice de trombogenicidade

4. Discussão

4.1. Ácidos graxos saturados de cadeias curta e média

O termo síntese *de novo* caracteriza o processo de síntese de novas moléculas a partir de precursores advindos do sangue. No caso dos ácidos graxos, caracteriza a síntese de cadeias carbônicas curtas e médias – menores ou iguais a 16 carbonos – a partir de moléculas altamente energéticas, como os aminoácidos, os carboidratos, os ácidos graxos voláteis ou, até mesmo, outros ácidos graxos (Ribeiro, 2013).

De forma aleatória entre os ácidos graxos de cadeia curta (4:0 a 10:0), o 4:0 foi o único que teve um crescimento linear em sua concentração com a inclusão do carvão, o que não foi observado para os ácidos 6:0 e 8:0 que, consoante Chilliard et al. (2007), que destacaram que esses ácidos têm suas concentrações inalteradas ou pouco reduzidas pela suplementação lipídica ou mesmo pela mobilização lipídica do corpo.

Chilliard et al. (2000) afirmaram que uma forma de acentuar a queda nas concentrações de ácidos graxos de cadeias curta e média seria pela redução no CMS, devido à redução na disponibilidade de acetato e β -hidroxibutirato para a síntese de ácidos graxos no leite. No presente estudo, entretanto, o CMS não foi alterado, tendo oscilado entre 1526,8 e 1477,9 g.kg⁻¹(Tabela 5 -Capítulo I).

Ainda de acordo com alguns autores, a proporção de 4:0 na gordura do leite geralmente não diminui (Palmquist e Jenkins, 1980) e em alguns trabalhos tende a um leve acréscimo em suas concentrações quando lipídeos são fornecidos na dieta (Palmquist et al., 1993; Enjalbert et al., 1998). O 4:0 é produzido durante a fermentação no rúmen, e sua proporção no perfil de ácidos graxos voláteis aumenta com a diminuição no pH ruminal (Esdale e Satter, 1972). A maior parte do carbono do 4:0 absorvido no rúmen (85-90%) e que aparece no sangue portal está em forma de β -hidroxibutirato (Beck et al., 1984). Isso indica que o 4:0 é convertido em β -hidroxibutirato na parede ruminal, antes de ser liberado para a circulação. Na glândula mamária, aproximadamente metade do 4:0 provém diretamente do β -hidroxibutirato (Palmquist et al., 1993).

Como a concentração de β -hidroxibutirato não foi mensurada no presente trabalho, portanto, torna-se difícil explicar o que levou ao aumento crescente do 4:0, dado que, se este tivesse sido aumentado pela elevação do β -hidroxibutirato, seria como dizer que o pH ruminal favoreceu a produção de maior quantidade de 4:0. Isto seria um contracenso, pois um baixo

pH iria interferir com a atividade das bactérias celulolíticas, o que muito provavelmente, por outros resultados já discutidos, não ocorreu. Mesmo porque, o aumento no tempo gasto com a ruminação, como já discutido no capítulo anterior, favorece a manutenção de um pH normal. Villela et al. (1997) trabalhando com inclusões de até 30% de caroço de algodão para vacas não relataram alterações no pH ruminal.

O aumento nas concentrações do 4:0 pode ser encarado de maneira positiva, pois o mesmo é conhecido por seus efeitos anti-carcinogênicos pela inibição de crescimento e diferenciação celular e indução da apoptose de várias linhagens de células cancerígenas (Parodi, 1997). Ainda, segundo Scheppach (1994), a elevação nos teores de 4:0 e seu consumo pelo leite reduzem os riscos de câncer de cólon.

Como discutido por Boerman e Lock (2014), à medida que se adicionou gordura na dieta de vacas, a proporção de ácidos graxos sintetizados *de novo* diminuiu, enquanto que a proporção de ácidos graxos pré-formados circulantes aumentou. Em sua metanálise, Glasser et al. (2008) examinaram a relação entre os ácidos graxos do leite e o fluxo duodenal dos mesmos; e relataram que aumentando o suprimento duodenal de ácidos graxos com 18 carbonos houve um aumento quadrático no montante destes ácidos no leite, com a subsequente redução linear do conteúdo de ácidos graxos sintetizados *de novo* no leite.

Conforme Almeida et al. (2013), a diminuição nas concentrações do 10:0 e dos outros ácidos graxos de cadeia curta no leite de cabras pode ser vista como uma ferramenta importante para a redução de seu odor característico. Isso porque, o 10:0, juntamente com os ácidos 6:0 e 8:0, são os responsáveis por tal característica no produto, que leva a certa resistência das pessoas em consumirem tanto o leite, quanto os seus derivados (Chilliard et al., 2003). Os ácidos 6:0, 8:0 e 10:0 constituem entre 15-18% dos ácidos graxos do leite de cabras (Chilliard et al., 2007).

Outra explicação possível é que o fluxo de ácidos graxos de cadeia longa provenientes do caroço de algodão para o leite via lipídeos circulantes, pode contribuir na diluição das concentrações de ácidos graxos de cadeia curta e média, e, portanto, podem ser responsáveis pelas baixas proporções destes ácidos (Chilliard et al., 2006).

Poder-se-ia acreditar, que ácidos graxos provenientes de mobilização do tecido adiposo, fossem os responsáveis pela redução nas concentrações dos ácidos graxos de cadeias curta e média. No entanto, estas cabras não estavam mais em balanço energético negativo, o

que pode ser atestado pelas concentrações normais de ácidos graxos não-esterificados (Tabela 11 – Capítulo I). Além disso, o experimento e a coleta de dados deram-se já após um período de 50 dias destas cabras em lactação. E como o estágio de lactação influencia o perfil de ácidos graxos, esperava-se que, nesta fase, os ácidos graxos já teriam suas concentrações aumentadas, o que não ocorreu. Salienta-se ainda de que as rações fornecidas deveriam contribuir para que a energia necessária para a produção de leite fosse plenamente suprida, segundo NRC (2006).

Os ácidos graxos (10:0, 14:0, 16:0, 18:0 e 18:1) correspondem a aproximadamente, 75% do total de ácidos graxos no leite de cabras (Park et al., 2007). As concentrações de 14:0 foram decrescentes e, da mesma forma, esperava-se que o 14:1 também sofresse tal efeito. Isso porque, segundo Carl et al., (2000) todo o 14:0 no leite é produzido via síntese *de novo* na glândula mamária, consequentemente, a desaturação é a única fonte de 14:1. A quantidade deste ácido graxo no leite apresentou-se quadrática.

Contudo, o principal ácido graxo saturado no leite é o ácido palmítico 16:0, apesar da constatação feita por Wu et al. (1991) de que o 18:0 era o único ácido graxo a ter seu fluxo aumentado em relação a quantidade ingerida em dietas com ou sem suplementação lipídica.

De acordo com Park et al. (2007), o 16:0 encontra-se numa concentração média de 28,2% (mínimo de 23,2% e máximo de 34,8%) no leite de cabras. O fato de o 16:0 estar em maiores concentrações no leite de cabras e sua concentração não ter sido alterada com a adição do caroço na dieta, pode explicar as concentrações dos saturados totais também terem se mantido inalteradas.

No presente estudo, os ácidos graxos de cadeia curta e média tiveram uma redução linear em suas concentrações, ao contrário, os ácidos graxos de cadeia longa apresentaram respostas lineares positivas em suas concentrações com a adição de caroço na dieta. Quando a depressão da gordura do leite não ocorre, como aqui observado, a diminuição nas concentrações de ácidos graxos de cadeias curta e média é causada pelo aumento nas concentrações de ácidos graxos de cadeia longa. Segundo Loften et al. (2014) estes ácidos diminuem a atividade da enzima acetil-CoA carboxilase, a qual é o passo primário para a síntese de ácidos graxos.

Os ácidos graxos de cadeia longa, contendo mais de 16 átomos de carbono inibem a síntese de ácidos graxos nas células epiteliais mamárias *in vitro*, tanto na espécie bovina

quanto na caprina. Estes efeitos são mais potentes quando as incubações são feitas com ácidos graxos que contêm cadeias mais longas e com maior grau de insaturação (Barber et al., 1997).

Em vacas e cabras a abundância de mRNA de genes das enzimas acetil-CoA carboxilase e ácido graxo sintase está associada com a síntese de ácidos graxos de cadeias curta e média, apesar de que a abundância destes transcritos nem sempre está diminuída pela adição de ácidos graxos poli-insaturados na dieta em cabras (Bernard et al., 2010).

4.2. Ácidos graxos saturados de cadeia longa

Alguns isômeros importantes, e que geralmente tem suas concentrações aumentadas pela ingestão de lipídeos pelas cabras, não foram alterados neste estudo. Esta é uma provável evidência de que as cabras são menos sensíveis às mudanças nas rotas de bio-hidrogenação, induzidas pela dieta, do que as vacas (Chilliard et al., 2007; Shingfield et al., 2010).

Diferenças na concentração de ácidos graxos de 20 a 22 carbonos não ocorreram entre os tratamentos, uma vez que, o caroço de algodão não se caracteriza por apresentar grandes quantidades destes ácidos graxos. Estes ácidos teriam que ser fornecidos na dieta para que fossem detectados no leite.

4.3. Ácidos graxos de cadeias ímpares e ramificadas

Como citado por Park et al. (2007), o principal objetivo em se quantificar os ácidos graxos de cadeias ramificada e ímpar (*iso* e *anteiso*) está no fato de os mesmos contribuírem com o saboroma dos produtos derivados do leite. Suas concentrações nos queijos são dependentes da composição do leite utilizado na manufatura destes produtos. Segundo Fievez et al. (2012) estes ácidos derivam de bactérias ruminais, sendo que as bactérias celulolíticas contêm mais ácidos graxos *iso*, enquanto as aminolíticas são ricas em *anteiso* e pequenas proporções de *iso*.

A maior parte dos ácidos graxos de cadeias ramificada e ímpar é incorporada na gordura do leite sem modificações adicionais. Entretanto, pode ocorrer a síntese *de novo* e a desaturação do 15:0 e 17:0, e também a elongação do 15:0 *iso* e 15:0 *anteiso* para gerar o 17 *iso* e o *anteiso* (Vlaeminck et al., 2015). Maia et al. (2007) relataram que as bactérias ruminais, particularmente as celulolíticas, eram negativamente afetadas pelos ácidos poli-insaturados.

Como as concentrações dos ácidos graxos 14:0 *iso*, 15:0 *iso* e 16:0 *iso* não foram afetadas pelos tratamentos, parece que os ácidos graxos presentes no caroço não causaram

efeitos tóxicos para as bactérias ruminais, especialmente as celulolíticas, como citado por Maia et al. (2007), dado que as mesmas contêm mais ácidos graxos *iso*. A digestibilidade da FDN, já discutida no capítulo anterior, sustenta ainda mais esta hipótese, visto que este parâmetro também não foi alterado pelos tratamentos.

Em sua revisão sobre a relação dos ácidos graxos de cadeias ramificada e ímpar, Fievez et al. (2012) indica que o *iso* 14:0 e o *iso* 16:0 no leite estão positivamente relacionados com a produção de acetato no rúmen, enquanto que os ácidos *iso* 15:0 e *iso* 17:0 estão negativamente associados com a produção de acetato mas positivamente relacionados com a produção de propionato. O 17:0 é derivado da síntese *de novo* a partir do propionil-CoA na glândula mamária e também dos ácidos graxos absorvidos de bactérias ruminais no intestino. A concentração de 17:0 sofreu redução linear com a inclusão de caroço de algodão. A proporção de milho nas dietas oferecidas para as cabras foi sendo reduzida, o que diminui a quantidade de amido disponível para as bactérias aminolíticas.

Como Fievez et al. (2012) atribuíram a concentração de 17:0 positivamente associada com a produção de propionato, uma menor produção desse ácido é esperada para estas cabras, o que não pode ser afirmado dado a falta de mensuração no presente trabalho.

Entretanto, pode-se supor que o propionato foi utilizado, prioritariamente, pelo fígado para a manutenção da glicemia, e conseqüentemente da produção de leite, o que foi verificado no capítulo anterior. Assim, uma menor quantidade de propionato foi utilizada como precursor de 17:0, limitando sua concentração no leite na medida em que se adicionava caroço de algodão na dieta.

4.4. Ácidos graxos insaturados

4.4.1. Ácidos graxos mono-insaturados

A concentração de ácidos graxos insaturados na gordura do leite de cabras passou de 24,73 para 26,82 g/100g de ácidos graxos totais. Esta resposta está associada aos aumentos, também lineares dos ácidos graxos mono e poli-insaturados, sendo ácidos graxos mono-insaturados aqueles que têm maior peso sobre este valor.

Os ácidos graxos monoinsaturados *cis* podem ser originados de três diferentes fontes: a) diretamente da dieta, ao passarem pelo rúmen sem que sejam modificados pelas enzimas microbianas; b) das rotas intermediárias da bio-hidrogenação dos ácidos graxos poli-insaturados; ou c) da ação da enzima Δ^9 -desaturase sobre o 18:0 na glândula mamária. Aproximadamente, dois terços de todo 18:0 absorvidos pela glândula mamária são

metabolizados pela enzima Δ^9 -desaturase, explicando, em parte, a elevada concentração do 18:1 no leite (Chilliard et al., 2003; Haug et al., 2007).

Os ácidos graxos mono-insaturados não promovem acúmulo de colesterol como fazem os ácidos saturados e também, não se tornam rancificados tão rapidamente quanto os ácidos poli-insaturados. Além disso, os mono-insaturados possuem um efeito positivo na concentração de HDL, transportando o colesterol do sangue para o fígado, para ser degradado a ácidos biliares (Park et al., 2007).

A adição de caroço de algodão na dieta das cabras não influenciou os teores de 18:1. Entre ácidos graxos mono-insaturados *cis*, este foi o que participou em maiores percentuais no leite, sendo que no presente estudo o mesmo ficou em concentrações médias de 19,14 g/ 100 g de ácidos graxos totais. Este resultado concorda com o que relata Markiewicz-Kęszycka et al. (2013), indicando que dentre os ácidos graxos mono-insaturados, o 18:1 é o que está presente em maior quantidade, e no caso de leite de cabra, este encontra-se em torno de 18% do total de ácidos graxos.

De forma distinta, o *cis* 9 18:1 não acompanhou a concentração do 18:0. A atividade da enzima Δ^9 -desaturase apresentou um ponto mínimo de 1,02 em 13,04% de inclusão de caroço na TMR. Concomitantemente, o 18:0 apresentou um ponto de máxima de 18,86 g/ 100 g de ácidos graxos totais em 13,83% de inclusão de caroço. É provável que a atividade da Δ^9 -desaturase tenha sofrido certo nível de inibição com o aumento crescente das concentrações de ácidos graxos poli-insaturados e de vários 18:1 *trans*, que conforme Chilliard et al., (2007) é um efeito sentido mais na espécie caprina se comparada com a bovina. No entanto, houve uma elevação linear do isômero de *cis* 9, 18:1, que é o *trans* 9, 18:1, demonstrando que o ambiente ruminal favoreceu a sua forma *trans*, pois muitos outros ácidos *trans* também apresentaram um aumento linear em suas concentrações.

A bio-hidrogenação do 18:0 é frequentemente apresentada como um passo único e direto para a formação do *cis* 9, 18:1, sem que haja qualquer intermediário. No entanto, Jenkins et al. (2007) mostraram que é muito comum a ocorrência de isomerização *cis* ou *trans* (*cis/trans*) desse ácido graxo, influenciada pela presença de diferentes espécies de bactérias no ambiente ruminal. Esses autores propuseram que a rota de bio-hidrogenação do 18:1 pode ocorrer tanto diretamente para o 18:1 como para formar ácidos graxos intermediários com cadeias oxigenadas e com duplas ligações entre os carbonos 6 e 16 da cadeia carbônica. Essa teoria é reforçada pelo fato de que vacas leiteiras alimentadas com dietas ricas em *cis* 9, 18:1

tendem a secretar leite com maiores teores de ácidos graxos 18:1 *trans* (Selner e Schultz, 1980).

Os ácidos graxos mono-insaturados *trans*, em sua maioria, apresentaram concentrações lineares no leite das cabras alimentadas com caroço de algodão na TMR. Isso indica que a bio-hidrogenação produziu muitos intermediários, que foram capazes de passarem pelo rúmen sem serem transformados enzimaticamente. Dentre eles, destaca-se o *trans*11, 18:1. Estima-se que 25% deste, que é formado no rúmen, é desaturado na glândula mamária para *cis* 9, *trans* 11, 18:2, o principal isômero de CLA no leite (Mosley et al., 2006).

Chama atenção as concentrações do *trans*10, 18:1 terem sido mantidas inalteradas pela presença do caroço na dieta. Ele é considerado um inibidor da lipogênese mamária em vacas (Lock et al., 2007; Kadegowda et al., 2009; Shingfield et al., 2009). Naquela espécie é comum observar mudança nas proporções de *trans* 10, 18:1 em relação às de *trans* 11, 18:1 (aumento do primeiro e redução do segundo), quando ocorre suplementação lipídica na dieta (Toral et al., 2015). Esta alteração tem sido associada com a depressão da gordura de leite, sendo a elevação na concentração do *trans* 10, 18:1 utilizada como um biomarcador, indicando alterações nas rotas da bio-hidrogenação ruminal (Bernard et al., 2015). No entanto, segundo Toral et al. (2014) as vacas são mais suscetíveis a estas mudanças do que as cabras.

A Δ^9 -desaturase tem baixa atividade nos ácidos com menos de 18 carbonos, por isso os ácidos mono e poli-insaturados são majoritariamente do tipo de cadeia longa.

4.4.2. Ácidos graxos poli-insaturados

Os ácidos graxos poli-insaturados também estão presentes na gordura láctea, sendo o ácido linoleico ω -6, o α -linolênico ω -3 e os isômeros de CLA seus principais representantes (Parodi, 1997; Jensen, 2002; O'Donnell-Mengaro et al., 2011).

O ácido α -linolênico (ω -3) é o principal substrato endógeno na síntese ácido ecosapentaenoico (EPA) 20:5 *cis* 5, *cis* 8, *cis* 11, *cis* 14, *cis* 17, docosahexaenoico (DHA) 22:6 *cis* 4, *cis* 7, *cis* 10, *cis* 13, *cis* 16, *cis* 19 e o docosapentaenoico (DPA) 22:5 *cis* 7, *cis* 10, *cis* 13, *cis* 16, *cis* 9 que, posteriormente, são convertidos a eicosanoides. Estes ácidos graxos têm importante papel no controle da agregação plaquetária e, por consequência, na redução de doenças coronarianas em humanos (Haug et al., 1992). Já o ácido linoleico (ω -6) é o principal substrato endógeno na síntese do ácido araquidônico (20:4 *cis* 5, *cis* 8, *cis* 11, *cis* 14).

Para aumentar as concentrações de ácidos graxos poli-insaturados no leite de cabras é preciso a ingestão de óleos com estes ácidos e fatores que diminuam sua bio-hidrogenação no rúmen, como altas relações volumoso:concentrado e lipídeos ricos em ácidos graxos poli-insaturados protegidos, que no caso do caroço de algodão, tal proteção dá-se pela forma física como o óleo se mostra misturado às sementes, o que aliás dá-se com várias oleaginosas quando fornecida como grãos inteiros ou semi macerados.

O caroço de algodão possui altas quantidades de ácidos graxos de cadeia longa, sendo que o ácido linoleico (18:2) compõe 51,1% do total de ácidos graxos, o 16:0 22,7%, e o 18:1 17,0% (NRC, 2001).

Dentre os ácidos graxos poli-insaturados, o 20:4 *cis* 5, *cis* 8, *cis* 11, *cis* 14 apresentou concentrações quadráticas no leite em função da incorporação desses ácidos (caroço) em quantidades crescentes na ração das cabras. Este é um ácido produzido a partir do 18:2 n-6, que por sua vez cresceu linearmente. É provável que tenha ocorrido uma saturação da enzima responsável pela transformação deste a partir de seu precursor.

Diferenças na concentração de ácidos graxos de 20 a 22 carbonos não ocorreram entre os tratamentos, dado que, o caroço de algodão não se caracteriza por apresentar grandes quantidades destes ácidos graxos. Os mesmos teriam que ser fornecidos na dieta para que fossem detectados no leite. Trabalhos anteriores (Farina et al., 2015; Selegato et al., 2015) demonstraram que estes ácidos graxos são mais abundantes no leite de vacas e cabras que possuem óleo de peixe na dieta, e que este tipo de óleo é o que geralmente está associado à depressão da gordura do leite em cabras, que acontece em menor proporção nesta espécie (NRC, 2007).

Conforme Chilliard et al., (2000) a baixa transferência de EPA e DHA para a gordura do leite é devido a bio-hidrogenação que ocorre no rúmen desempenhada pelas bactérias ruminais. Somente em casos onde estes ácidos são fornecidos em grande quantidade é que excede a capacidade das bactérias em transformar tais ácidos, sendo assim, os mesmos escapam do rúmen e chegam ao intestino.

4.5. Ácidos linoleicos conjugados

Os ácidos linoleicos conjugados, denominado como CLA, é o nome genérico dado a uma coleção de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico, que contêm duplas ligações conjugadas (AbuGhazaleh et al., 2003). Para cada isômero posicional, quatro pares

de isômeros geométricos são possíveis (*cis*, *trans*; *trans*, *cis*; *cis*, *cis*; e *trans*, *trans*). O termo CLA abrange, portanto, 28 isômeros posicionais e geométricos, dos quais 25 já foram identificados na gordura láctea (Steinhart et al., 2003; Kramer et al., 2004) e apenas o 18:2 *cis* 9, *trans* 11, o CLA *trans* 7, *cis* 9, o CLA *trans* 10, *cis* 12, o CLA *trans* 9, *cis* 11 e o CLA *trans* 9, *trans* 11 possuem, até o momento, comprovada atividade biológica (Collomb et al., 2004).

A adição de caroço de algodão na dieta das cabras não levou a um incremento no conteúdo de CLA, no entanto, é preciso ressaltar que o CLA *trans* 7, *cis* 9 não foi contabilizado no somatório, pois não foi detectado na análise. De acordo com Chilliard et al. (2002) um aumento no CLA através de mudanças na dieta resulta em menores proporções de ácidos graxos saturados e altas proporções de mono e poli-insaturados. Normalmente, para isso os óleos são mais efetivos do que as suas sementes.

O ácido 18:1 *trans* 11 é o precursor de outro isômero importante, o *cis* 9, *cis* 12 18:2, e esta síntese envolve a enzima Δ^9 -desaturase. Com a inclusão do caroço de algodão o conteúdo de 18:1 *trans* 11 aumentou linearmente, sendo que o *cis* 9, *cis* 12 18:2 acompanhou este comportamento. Possivelmente, alguma interferência na atividade da Δ^9 -desaturase deve ter ocorrido. O caroço de algodão possui alguns ácidos graxos ciclopropenóicos que inibem a atividade da Δ^9 -desaturase, contudo, esta foi uma inibição incompleta. Isto é evidenciado pela presença do *cis* 9 14:1, que apresentou uma resposta quadrática em razão da inclusão de caroço de algodão nas rações das cabras, enquanto que o 14:0 decresceu linearmente. O 14:1 é originado da desaturação do 14:0 pela ação desta mesma enzima. Assim, a magnitude da redução no 14:1, induzida pela adição de caroço de algodão, fornece uma estimativa da inibição da Δ^9 -desaturase (Corl et al. 2001).

Os ácidos graxos ciclopropenoídicos são encontrados nos óleos de muitas sementes de plantas, sendo comum também em algumas flores. O óleo de caroço de algodão contém quantidades mensuráveis destes ácidos que podem impactar negativamente o desempenho animal, devido à inibição da Δ^9 -desaturase (Corl et al. 2001), o curto espaço das avaliações nutricionais aqui realizadas não permitiu uma comprovação desse tipo de resposta.

Entretanto, a quantidade de caroço de algodão oferecida para as cabras, ou mesmo a taxa de passagem das mesmas, conhecidamente mais rápida do que em vacas, pode ter promovido maior presença destes ácidos graxos ciclopropenoídicos, que levaram a certa uma inibição da Δ^9 -desaturase.

A adição de caroço de algodão na dieta de cabras elevou as concentrações da maioria dos isômeros *cis* e *trans* do 18:1. Apesar disso, um importante intermediário da bio-hidrogenação *cis* 9, *trans* 11, 18:2 não sofreu efeito do caroço na dieta. O *cis* 9, *trans* 11, 18:2 é um conhecido intermediário da bio-hidrogenação ruminal dos ácido linoleico e α -linolênico. Inicialmente, imaginou-se que essa fosse sua única origem nos ruminantes. No entanto, Griinari et al. (2000) demonstraram que, na verdade, a maior parte (58-77%) desse isômero é sintetizada na glândula mamária pela ação da enzima Δ^9 -desaturase, utilizando o ácido vacênico como substrato. Assim, qualquer estratégia que objetive elevar o teor de *cis* 9, *trans* 11, 18:2 na gordura do leite deve focar no aumento do fluxo extra ruminal do ácido vacênico e da atividade da enzima Δ^9 -desaturase no tecido mamário.

Presentemente, apesar de seu precursor ácido 18:1 *trans* 11 ter apresentado uma concentração linear positiva devido ao incremento de óleo via caroço de algodão nas rações, *cis* 9, *trans* 11, 18:2 não foi afetado pelos tratamentos. Como já ressaltado em discussão anterior, é possível que ação da enzima Δ^9 -desaturase tenha sido mesmo reduzida. Este resultado vai de encontro com os achados de outros ácidos que são produtos da atividade desta enzima.

Concentrações traço foram identificadas para o *trans* 10, *cis* 12 18:2 no presente estudo, achado similar foi relatado por Serment et al., (2011). Uma alteração na rota de bio-hidrogenação tem sido apontada como responsável pela produção deste CLA, que conforme Bauman e Griinari, (2001), é um dos causadores da depressão da gordura do leite.

Porém, torna-se conveniente ressaltar que o percentual de gordura aumentou com a adição do caroço de algodão na dieta. Este resultado permite supor que os teores de inclusão do caroço não geraram mudanças na bio-hidrogenação ruminal, o que evitou a ocorrência de uma depressão da gordura do leite. Segundo Andrade e Schmidely (2006) o *trans* 10, *cis* 12 CLA sempre se mantém em concentrações traço em cabras, exceto quando o mesmo é infundido pós-ruminalmente. Já Schmidely e Morand-Fehr (2004) não constataram aumento neste isômero CLA após infusões intravenosas em cabras lactantes.

Os resultados encontrados corroboram com o postulado no qual a sensibilidade da lipogênese mamária aos efeitos inibitórios do *trans* 10, *cis* 12 CLA é muito menor em caprinos do que em bovinos, como já sugerido por Shingfield et al., (2009). Segundo Bernard et al., (2009) e Toral et al., (2014) trabalharam com uma variedade de dietas para bovinos, registrando que as vacas são muito mais suscetíveis às alterações na bio-hidrogenação que as

cabras. Esse fato pode justificar a ausência de efeitos do caroço de algodão sob as concentrações de *trans* 10, *cis* 12 CLA.

4.6. Razões e índices de ácidos graxos

O índice HH considera a atividade funcional dos ácidos graxos no metabolismo de lipoproteínas que transportam colesterol, onde o tipo e a quantidade de ácidos graxos estão relacionados com maiores ou menores riscos de incidência de doenças cardiovasculares.

Este índice é a relação entre o somatório dos ácidos graxos hipocolesterolêmicos (18:1 *cis*-9; 18:3 *cis*-9 *cis*-12 *cis*-15; 20:5 ω -3 e 22:6 ω -3) e o somatório dos ácidos graxos hipercolesterolêmicos (12:0; 14:0 e 16:0).

Diferentemente dos índices de aterogenicidade e trombogenicidade, quanto maior o índice HH melhor o valor nutricional do óleo ou gordura, e menor o risco de doenças cardiovasculares em humanos (Santos-Silva et al. 2002).

Chilillard et al. (2007) descreveram que os ácidos 12:0, 14:0, 16:0, que são considerados possuidores de altos potenciais aterogênicos, diminuíram em 25 tipos de dietas com suplementos lipídicos para cabras. No leite caprino aqui avaliado os ácidos 12:0 e 14:0 apresentaram comportamento linear decrescente em razão da incorporação do óleo fornecido pelo caroço de algodão nas rações das cabras, reforçando outros resultados já demonstrados na literatura. Somente o 16:0 não foi alterado pela adição de caroço de algodão.

Para definir o índice de trombogenicidade são considerados os ácidos graxos 14:0, 16:0 e 18:0 como pró-trombogênicos, enquanto os insaturados são admitidos como antitrombogênicos com diferentes potencialidades, isto é, os ácidos graxos monoinsaturados e ácidos graxos poli-insaturados omega-6 são menos antitrombogênicos que o ácido graxo poli-insaturado omega-3 (Caldeira et al., 2010).

O índice de aterogenicidade (capacidade em induzir aterosclerose) diminuiu com a adição do caroço na dieta das cabras. Já o índice de trombogenicidade (capacidade em induzir infartos) comportou-se de maneira quadrática com a adição do caroço na dieta total das cabras. De acordo com Bentes et al. (2009) em ambos os índices quanto menores foram seus respectivos valores, maiores serão as quantidades de ácidos graxos aterogênicos presentes na fonte de lipídeos oferecida, e, portanto, maior é o potencial para a prevenção do desenvolvimento de doenças coronárias.

Não há valores recomendados para tais índices em produtos derivados do leite; no entanto, considera-se mais favorável à saúde humana quanto menores forem os valores destes índices (Bentes et al., 2009).

A necessidade de se obter uma boa relação n-6/n-3 está no fato de o omega-6 possuir efeitos pró-inflamatórios, aumentando a produção de citocinas com vasoconstrição, o que promove a agregação plaquetária. Este fenômeno está associado à ocorrência de doenças cardiovasculares, autoimunes e inflamatórias. Por outro lado, os ácidos graxos omega-3 desempenham funções importantes na prevenção destas doenças cardiovasculares, pois produzem eicosanoides, com baixo potencial inflamatório, inibindo a agregação plaquetária (Martin et al., 2006). A relação n-6/n-3 indicada pela FAO é de 5:1 até 10:1, dietas com estes valores são consideradas balanceadas nesta relação n-6/n-3.

O total de ácidos graxos mono e poli-insaturados apresentaram resposta linear em suas concentrações conforme forneceu-se caroço de algodão (óleo) às cabras em lactação, enquanto que o total de saturados manteve-se inalterado. Chilliard et al. (2007) citaram em sua revisão que a maioria dos trabalhos em que ocorreu a suplementação com lipídeos na dieta de cabras, ocorreu também acréscimos nas concentrações de ácidos graxos insaturados. Este mecanismo, segundo estes autores, é responsável por compensar a queda na síntese de novo, mantendo e, por vezes, aumentando o teor de gordura do leite.

Neste trabalho, como já discutido, os ácidos 18:1 *trans*, em sua maioria, tiveram crescimento linear em suas quantidades no leite. A resposta mostrada pelo total de saturados pode estar atrelada às maiores proporções de 16:0 que compõem este somatório, e como já discutido, este ácido não sofreu mudanças em seu conteúdo, mantendo total de saturados inalterado.

A mesma explicação pode ser usada para os resultados de AGCC, AGCM e AGCL. Isso porque os AGCC correspondem a maior proporção de ácidos graxos saturados, e os AGCM e AGCL possuem maiores proporções de ácidos graxos insaturados.

4.7. Atividade da Δ^9 desaturase

As células epiteliais da glândula mamária contêm um complexo enzimático chamado estearoil-CoA desaturase (SCD), também conhecido como Δ^9 desaturase. Este complexo enzimático catalisa a oxidação dos ácidos acil-CoA ésteres, resultando na introdução de dupla ligação *cis* entre os átomos de carbono 9 e 10 (Shingfield et al., 2010). A atividade da Δ^9 -

desaturase nestas células é tida como um mecanismo que assegura a fluidez do leite para uma utilização eficiente pela cria (Timmen e Patton, 1988).

Torna-se importante estimar a atividade da Δ^9 desaturase uma vez que os CLA são produzidos, majoritariamente, na glândula mamária a partir do 18:1 *trans*11 via Δ^9 desaturase (Allred et al., 2006).

A atividade da Δ^9 desaturase foi calculada pela relação entre os pares 14:0/14:1 *cis*-9, 18:0 /18:1 *cis*-9 e ácido vacênico /ácido rumênico. Todos os pares apresentaram comportamento quadrático devido ao aumento de caroço nas rações das cabras. O ácido rumênico é um dos principais isômeros do linoleico (18:2 n-6) e neste estudo sofreu efeito dos tratamentos, aumentando em 23%. De acordo com Palmquist et al. (2005), altas concentrações de ácido rumênico são encontradas no leite de ruminantes, pois este isômero CLA é sintetizado tanto no rúmen, como um intermediário na bio-hidrogenação do 18:2 n-6, quanto na glândula mamária e em outros tecidos do corpo, a partir da desaturação do ácido vacênico via atividade da Δ^9 desaturase.

Segundo Fievez *et al.* (2003), o índice de desaturase, responsável por quantificar a afinidade da Δ^9 desaturase pelos seus substratos no par ácido vacênico/rumênico é, reconhecidamente, um dos mais altos.

Poder-se-ia pensar que a dieta com caroço seria capaz de interferir com a atividade da Δ^9 desaturase, afetando de alguma forma a expressão dos genes que codificam esta enzima nos tecidos dos ruminantes (i.e., SCD1 e SCD5; Lengi e Corl, 2007). Entretanto, trabalhos desenvolvidos por Bernard et al. (2009) e Toral et al. (2012) não relataram efeitos significativos de diferentes dietas (altas em concentrado e altas em óleo) sobre a abundância dos genes SCD1 ou SCD5 nas células secretoras do tecido mamário ou mesmo em outros tecidos.

Bernard et al. (2009) não assinalaram alterações na expressão do gene da Δ^9 desaturase, quando da inclusão de óleos de girassol e linhaça para cabras. Destacaram então que o fato de estes óleos não terem afetado a expressão gênica de enzimas importantes para a síntese da gordura do leite, indica que as mudanças no perfil de ácidos graxos em cabras estão associadas a mecanismos independentes de mudanças na expressão gênica nos tecidos mamário, hepático e adiposo. Por analogia, é possível supor que no presente estudo o mesmo aconteceu.

Os índices de desaturase possuem alta correlação com a abundância de mRNA e atividade enzimática (Bernard et al., 2008). O resultado do presente estudo indica que a atividade enzimática de Δ^9 desaturase, de modo geral, atingiu um platô e posteriormente sofreu uma queda, ou seja, chega um ponto em que a suplementação lipídica começou a interferir com a atividade enzimática de Δ^9 desaturase, diminuindo esta atividade.

O *trans* 10, *cis* 12 CLA é tido como um inibidor da síntese de ácidos graxos na glândula mamária (Baumgard et al., 2002), diminuindo a atividade da Δ^9 desaturase. Contudo, neste trabalho a concentração de *trans* 10, *cis* 12 CLA foi considerada traço, o que indica que este composto não contribui para a redução dos efeitos da Δ^9 desaturase.

5. Conclusão

O fornecimento de caroço de algodão a cabras em lactação possibilita melhorias relativas às concentrações ácidos graxos importantes para a saúde humana, o que habilita o fornecimento de leite de cabra com capacidade nutracêutica para consumo humano.

6. Implicações futuras

O estudo dos efeitos da inclusão de caroço de algodão em dietas de cabras leiteiras sobre os teores dos ácidos graxos torna-se essencial tendo em vista a busca constante de consumidores cada vez mais exigentes quanto ao que consomem e o impacto desse consumo na saúde.

O aumento nas concentrações destes ácidos graxos no leite é válido, também, do ponto de vista mercadológico, pois asseguram à indústria de laticínios qualidade da matéria prima e manutenção de níveis mínimos destes ácidos graxos no leite. Mesmo que atendam ainda a um nicho de mercado, surgem novas possibilidades a serem explorados.

É preciso considerar, ainda, que o uso de caroço de algodão em dietas de cabras leiteiras pelos produtores só será justificado se a indústria remunerar esse produtor por essa busca de produtos nutracêuticos.

Referências bibliográficas

ABUGHAZALEH, A. A., D. J. SCHINGOETHE, A. R. HIPPEN, K. F. KALSCHEUR. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acid profiles. *J. Dairy Sci.* v. 86, p.944–953, 2003.

ADEWUYI, A. A.; GRUYS, E.; VAN EERDENBURG, F. J. V. M. Non esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle. A review. *Veterinary Quarterly.* v. 27, p. 117-126, 2005.

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

ALLRED, S.L.; DHIMAN, T.R.; BRENNAND, C.P. et al. Milk and cheese from cows fed calcium salts of palm and fish oil alone or in combination with soybean products. *J. Dairy Sci.* v.89, p.234-248, 2006.

ANDRADE, P.V.D.; SCHMIDELY, P. Effect of duodenal infusion of trans10,cis12-CLA on milk performance and milk fatty acid profile in dairy goats fed high or low concentrate diet in combination with rolled canola seed. *Reprod. Nutr. Dev.*, v.46, p 31-48, 2006.

ASHES, J.R., SIEBERT, B.D., GULATI, S.K. et al. Incorporation of n-3 fatty acids of fish oil into tissue and serum lipids of ruminants. *Lipids*, v.27, p.629-631, 1992.

ASHES, J.R.; GULATI, S.K.; SCOTT, T.W. Potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. *J. Dairy Sci.*, v.80, p.2204–2212, 1997.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of the Association of the Analytical Chemists. 17 ed. Washington, 2000. v.2

ASTRUP, A. Yogurt and dairy product consumption to prevent cardiometabolic diseases: epidemiologic and experimental studies. *Am J Clin Nutr.*, v. 99, p.1235S-42S, 2014.

BARBER, M.C., R.A. CLEGG, M.T. TRAVERS, M.G. VERNON. Lipid metabolism in the lactating mammary gland. *Biochim Biophys Acta*, v.1347, p.101-126, 1997.

BAUCHART, D., LEGAY CARMIER, F., DOREAU, M. GAILLARD, B. Lipid metabolism of liquid-associated and solid-adherent bacteria in rumen contents of dairy cows offered lipid-supplemented diets. *Br. J. Nutr.*, v.63, p.563-578, 1990.

BAUMAN, D. E., J. W. PERFIELD II, M. J. de VETH, and A. L. LOCK. New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. *Proc. Cornell Nutr. Conf.* pp. 175-189, 2003.

BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci.*, v. 70, p. 15-29, 2001.

BAUMAN, D. E.; HARVATINE, K. J.; LOCK, A. L. Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. *Annu Rev Nutr*, v. 31, p. 299-319, 2011.

BAUMAN, D.E., AND C.L. DAVIS. 1974. Biosynthesis of milk fat. In: B.L. Larson and V.R. Smith (Eds.). *Lactation: a comprehensive treatise*. Vol. 2. p. 31–75. Academic Press, London, UK.

BAUMAN, D.E., CORL, B.A., PETERSON, D.G. The biology of conjugated linoleic acids in ruminants. In: J. L. Sebedio, W. W. Christie and R. Adlof (ed.) *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. p 146-173. AOCS Press, Champaign, IL. 2003

BAUMAN, D.E., GRIINARI, J.M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu. Rev. Nutr.*, v.23, p.203-227, 2003.

BAUMAN, D.E.; CURRIE, W. B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.* 63:1514-1529, 1980.

BAUMAN, D.E.; LOCK, A.L. 2006. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows. Pages 1-14. In: *Proc. Tri-State Dairy Nutr. Conf.* Available at: <http://tristatedairy.osu.edu/>

BAUMGARD LH, MATITASHVILI E, CORL BA, DWYER DA, Bauman DE. trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.85, p. 2155-2163, 2002.

BEAM, T.M., JENKINS, T.C., MOATE, P.J., et al. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. *J. Dairy Sci.* ,v.83, p.2564-2573, 2000.

BECK, U.; EMMANUEL, B.; GIESECKE, D. The ketogenic effect of glucose in rumen epithelium of ovine (*Ovis aries*) and bovine (*Bas taurus*) origin. *Comp. Biochem. Physiol. B* 77, 517-521, 1984.

BENTES, A. S. et al. Caracterização física e química e perfil lipídico de três espécies de peixes amazônicos. *R. bras. Tecnol. Agroindustr.*, v. 3, n. 2, p. 97-108, 2009.

BERGMAN, E.N.; HEITMANN, R.N. Metabolism of amino acids by the gut. liver, kidneys and peripheral tissues. *Fed. Proc.*v. 37, 1228 -1232, 1978.

BERNARD, J.K.; SICILIANO-JONES, J.; WEST, J.W.; WEDEGAERTNER, T.C. Production response of lactating dairy cows to whole cottonseed with elevated concentrations of free fatty acids in the oil. *The Professional Animal Scientist*, v.23, p.54-57, 2007.

BERNARD, L., C. LEROUX, J. ROUEL, C. DELAVAUD, K. J. SHINGFIELD, AND Y. CHILLIARD. Effect of extruded linseeds alone or in combination with fish oil on intake, milk production, plasma metabolite concentrations and milk fatty acid composition in lactating goats. *Animal* 9:810–821, 2015.

BERNARD, L., MOURIOT, J., ROUEL, J., GLASSER, J., CAPITAN, P., PUJOS-GUILLOT, E., CHARDIGNY, J.M., CHILLIARD, Y. Effects of fish oil and starch added to a diet containing sunflower-seed oil on dairy goat performance, milk fatty acid composition and in vivo $\Delta 9$ -desaturation of [^{13}C]vacenic acid. *Br. J. Nutr.* v.104, p.346–354, 2010.

BERNARD, L.; BONNET, M.; LEROUX, C. et al. Effect of sunflower-seed oil and linseed oil on tissue lipid metabolism, gene expression, and milk fatty acid secretion in Alpine goats fed maize silage-based diets. *J. Dairy Sci.*, v.92, p.6083-6094, 2009.

BOERMAN JP, LOCK AL. Effect of unsaturated fatty acids and triglycerides from soybeans on milk fat synthesis and biohydrogenation intermediates in dairy cattle. *J Dairy Sci.*; v.97, p.7031-42, 2014.

BORGES, I. Influência da dieta na degradabilidade *in situ* do caroço de algodão integral e do bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado, na dinâmica da fermentação ruminal e na cinética sangüínea de ovinos. Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG. 130 p. 1997. Tese Doutorado.

BRASIL - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E PECUÁRIA. Instrução Normativa n. 37, de 31 de outubro DE 2000.

CALDEIRA, L.A.; FERRAO, S.P.B.; FERNANDES, S.A.A. *et al.* Lipid profile of Murrah buffalo milk. *Red. Vet.*, v.21, supl. 1, p.567-568, 2010.

CANT, J.P., E.J. DEPETERS, AND R.L. BALDWIN. Mammary amino acid utilization in dairy cows fed fat and its relationship to milk protein depression. *J. Dairy Sci.* 76: 762-774, 1993.

CARDOSO, E. G. Utilização de subprodutos do algodoeiro na alimentação animal. In: EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária do Oeste (Dourados, MS). **Algodão: Informações Técnicas**. Dourados, EMBRAPA-CNPA, 1998. p. 255-267. (EMBRAPA-CPAO. Circular Técnica, 7).

CENKVÀRI, E.; FEKETE, S.; FÉBEL, H.; VERESEGYHÁZI, T. AND ANDRÁSOF SZKY, E. Investigation on the effects of Ca-soaps of oil linseed on rumen fermentation in sheep on milk composition of goats. *J Anim Physiol Anim Nutr* , v.89, p.172-178, 2005.

CHEN, P.; JI, P.; LI, S.L. Effects of Feeding Extruded Soybean, Ground Canola Seed and Whole Cottonseed on Ruminal Fermentation, Performance and Milk Fatty Acid Profile in Early Lactation Dairy Cows. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* Vol. 21, No. 2 : 204 – 213, 2008.

CHILLIARD, Y., FERLAY, A. Dietary lipids and forages interaction on cow and goat milk fatty acids composition and sensory properties. *Reprod Nutr Dev*, v.44, p.467-492, 2004.

CHILLIARD, Y., FERLAY, A., MANSBRIDGE, R.M., DOREAU, M. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.*, v.49, p.181-205, 2000.

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; ROUEL, J.; LAMBERET, G. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J. Dairy Sci*, v. 86, n. 5, p. 1751-1770, 2003.

CHILLIARD, Y.; GLASSER, F.; FERLAY, A.; BERNARD, L.; ROUEL, J.; DOREAU, M. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *Eur J Lipid Sci Technol*, v.109, p.828–855, 2007.

CHOUINARD, P.Y.; CORNEAU, L.; SAEBO, A. et al. Milk yield and composition during abomasal infusion of conjugated linoleic acids in dairy cows. *J. Dairy Sci*, v. 82, p. 2737–2745, 1999.

CHRISTIE, W. W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. *J. Lipid Res.*, v.23, p.1072, 1982.

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

CORL, B. A.; BAUMGARD, L. H.; DWYER, D. A.; GRIINARI, J. M.; PHILLIPS, B. S.; BAUMAN, D. E. The role of delta(9)-desaturase in the production of *cis*-9 *trans*-11 CLA. *Journal of Nutrition Biochemistry*, v. 12, p. 622-630, 2001.

COSTA, D.A.; CARNEIRO, J.C.; LOPES, F.C.F. et al. Produção e composição do leite de vacas submetidas à dieta contendo diferentes níveis de caroço de algodão. *Semina: Ci. Agr.*, v.32, p.2001-2010, 2011.

CRICHTON, G.E, ALKERWI, A. Dairy food intake is positively associated with cardiovascular health: findings from Observation of Cardiovascular Risk Factors in Luxembourg study. *Nutr Res.* 34(12):1036-44, 2014.

CRUZ-HERNANDEZ, C.; KRAMER, J. K. G.; KENNELLY, J. J.; GLIMM, D. R.; SORENSEN, B. M.; OKINE, E. K.; GOONEWARDENE, L. A.; WESELAKE, R. J. Evaluating the conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in milk fat of dairy cows fed increasing amounts of sunflower oil and a constant level of fish oil. *J. Dairy Sci.*, v.90, p.3786-3801, 2007.

DANFÆR, A. Nutrient metabolism and utilization in the liver. *Livest. Prod. Sci* v.39, p.115–127, 1994.

DAVIS, C. L. 1990. Fats in Animal Feeds. Barnaby Inc., Sycamore, IL.

DAWSON, R.M.C.; KEMP, P. Short Communication: The Effect of Defaunation on the Phospholipids and on the Hydrogenation of Unsaturated Fatty Acids in the Rumen. *Biochem. J.* 115, 351, 1969.

DAYANI, O.; GHORBANI, G.R.; ALIKHANI, M. et al. Effects of dietary whole cottonseed and crude protein level on rumen protozoal population and fermentation parameters. *Small Rumin. Res.*, v.69, p.36-45, 2007.

DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proc.Nutr.Soc.*, v.58, p.593-607, 1999.

DEVILLARD, E.; MCINTOSH, F.M.; NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J. Rumen ciliate protozoa contain high concentrations of conjugated linoleic acids and vaccenic acid, yet do not hydrogenate linoleic acid or desaturate stearic acid. *Br. J. Nutr.* 96, 697–704, 2006.

DOREAU, M., CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *Br. J. Nutr.*, v.78, p.S15-S35, 1997.

DOREAU, M., FERLAY, A. Digestion and utilization of fatty-acids by ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.45, p.379-396, 1994.

DRACKLEY, J.K., BEITZ, D.C. ; YOUNG, J.W. Regulation of in vitro palmitate oxidation in liver from dairy cows during early lactation. *J. Dairy Sci.* 74:1884-1892, 1991.

ENJALBERT F., NICOT M.C., BAYOURTHE C., MONCOULON R., Duodenal infusions of palmitic, stearic or oleic acids differently affect mammary gland metabolism of fatty acids in lactating dairy cows, *J. Nutr.* 128 p.1525–1532, 1998.

ESDALE, W. J. AND L. D. SATTER. Manipulation of ruminal fermentation. IV. Effect of altering ruminal pH on volatile fatty acid production. *J. Dairy Sci.* 55:964, 1972.

FARINA G, CATTANEO D, LECCHI C, INVERNIZZI G, SAVOINI G, et al. A Review on the Role of EPA and DHA Through Goat Nutrition to Human Health: Could they be Effective both to Animals and Humans?. *J Dairy Vet Anim Res*, v.2, 2015.

FELLNER, V.; SAUER, F. D.; KRAMER, K. J. K. G. Steady-state rates of linoleic acid biohydrogenation by ruminal bacteria in continuous culture. *Journal of Dairy Science*, v. 78, p. 1815-1823, 1995.

FERNANDES, S. R.; FREITAS, J. A. de; SOUZA, D. F. de; KOWALSKI, L. H.; DITTRICH, R. L.; JUNIOR, P. R.; SILVA, C. J. A. da. Lipidograma como ferramenta na avaliação do metabolismo energético em ruminantes. *Bras. Agrociência*, v.18, n.1-4, p.21-32, 2012.

FIEVEZ V, COLMAN E, CASTRO-MONTOYA JM, STEFANOV I, VLAEMINCK B. Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function-An update. *Anim Feed Sci Technol.* 172:51–65, 2012.

FIEVEZ, V.; VLAEMINCK, B.; DHANOA, M. S.; DEWHURST, R. J. Use of principal component analysis to investigate the origin of heptadecenoic and conjugated linoleic acids in milk. *J. Dairy Sci.*, v. 86, p. 4047–4053, 2003.

GERMAN, J.B.; GIBSON, R.A.; KRAUSS, R.M.; NESTEL, P.; LAMARCHE, B.; VAN STAVEREN, W.A.; STEIJNS, J.M.; DE GROOT, L.C.; LOCK, A.L.; Destailats, F. A reappraisal of the impact of dairy foods and milk fat on cardiovascular disease risk. *Eur. J. Nutr.* 48, 191–203, 2009.

GLASSER, F.; FERLAY, A.; CHILLIARD, Y. Oilseed lipid supplements and fatty acid composition of cow milk: A meta-analysis. *J. Dairy Sci.*, v. 91, p. 4687–4703, 2013.

GRAINGER, C.; WILLIAMS, R.; CLARKE, T. et al. Supplementation with whole cottonseed causes long-term reduction of methane emissions from lactating dairy cows offered a forage and cereal grain diet. *J. Dairy Sci.*, v. 93, n. 6 p. 2612–2619, 2010.

GRIINARI, J. M., BAUMAN, D.E. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: M. P. Yurawecz, M. M. Mossoba,

GRIINARI, J. M.; BAUMAN, D. E.; CHILLIARD, Y. et al. Dietary influences on conjugated linoleic acids (CLA) in milk fat. *Proc. Mtg. European Section AOCS*, p. 97, 2000.

HAENLEIN, G.F.W. Goat milk in human nutrition. *Small Rumin. Res.* 51, 154–163, 2004.

HARFOOT, C. G. 1981. Lipid metabolism in the rumen. In: W. W. Christie (ed.) *Lipid Metabolism in Ruminant Animals*. pp 21–55. Pergamon Press Ltd., Oxford, UK.

HARFOOT, C. G., HAZLEWOOD, G. P. Lipid metabolism in the rumen. In: P. N. Hobson and C. S. Stewart (ed.) *The Rumen Microbial Ecosystem*. pp 382–426. Chapman & Hall, London, UK, 1997.

HART, S. P. Nutrition for the high producing dairy doe. *J. Anim. Sci.* 78 (Suppl.1):8, 2000.

HARVATINE, D.I., J.E. WINKLER, M. DEVANT-GUILLE, J.L. FIRKINS, N.R. ST. PIERRE, B.D. OLDICK, AND M.L. EASTRIDGE. Whole linted cottonseed as a forage substitute: fiber effectiveness and digestion kinetics. *J. Dairy Sci.* 85: 1988-1999, 2002.

HAUG A, HALLAQ H, LEAF A, 1992, Potential antiatherogenic effect of omega-3 fatty acids In: Neri Seneri SS, Gensini GF, Abbate R, Prisco D, editors, *Thrombosis, an update*, Scientific press, Florence, 361-72.

HAUG A, HOSTMARK AT, HARSTAD OM. Bovine milk of human nutrition - a review, *Lipids Health Dis*, 6, 25-41, 2007.

HE, M.; PERFIELD, K. L.; GREEN, H. B.; ARMENTANO, L. E. Effect of dietary fat blend enriched in oleic or linoleic acid and monensin supplementation on dairy cattle performance, milk fatty acid profiles, and milk fat depression. *J. Dairy Sci.*, v. 95, p. 1447–1461, 2012.

HUNGATE RE. 1966. The ruminal and its microbe. Academic Press; New York. NY: p. 533

JAKOBSEN, M.U.; OVERVAD, K.; DYERBERG, J.; HEITMANN, B.L. Intake of ruminant trans fatty acids and risk of coronary heart disease. *Int. J. Epidemiol.* v.37, p.173–182, 2008.

JENKINS, T.C. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.*, v.76, p.3851-3863, 1993.

JENKINS, T.C.; BRIDGES W.C. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. *Eur J Lipid Sci Technol*, v 109, p.778-789, 2007.

JENSEN, R. G. The Composition of Bovine Milk Lipids: January 1995 to December 2000. *J Dairy Sci*, v. 85, p. 295-350, 2002.

KADEGOWDA, A. K. G., M. BIONAZ, L. S. PIPEROVA, R. A. ERDMAN, J. J. LOOR. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation and long-chain fatty acids alter lipogenic gene networks in bovine mammary epithelial cells to various extents. *J. Dairy Sci.* 92:4276–4289, 2009.

KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L. 1997. (Eds.) *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. San Diego: Academic Press, 932p.

KEELE, J.W., R.E. ROFFLER AND K.Z. BEYERS. Ruminal metabolism in nonlactating cows fed whole cottonseed or extruded soybeans. *J. Anim. Sci.* 67: 1612-1622, 1989.

KEMP, P.; LANDER, D.J. Hydrogenation in vitro of alpha linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 130: 527–533, 1984.

KRAMER J.K, CRUZ-HERNANDEZ C, DENG Z, ZHOU J, JAHREIS G, DUGAN M.E. Analysis of conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in synthetic and animal products. *Am J Clin Nutr.* v.79(6 Suppl):1137S-1145S, 2004.

KRATZ, M.; BAARS, T.; GUYENET, S. The relationship between high-fat dairy consumption and obesity, cardiovascular, and metabolic disease. *Eur. J. Nutr.*, v.52, p.1–24, 2013.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger principles of biochemistry*. 4.ed. New York: W.H.Freeman, 2005. 1119p.

LENGI A.J., & CORL B.A. Identification and characterization of a novel bovine stearoyl-CoA desaturase isoform with homology to human SCD5. *Lipids.* 42:499–508, 2007.

LERCH S, FERLAY A, SHINGFIELD KJ, MARTIN B, POMIÈS D, CHILLIARD Y. Rapeseed or linseed supplements in grass-based diets: Effects on milk fatty acid composition of Holstein cows over two consecutive lactations. *J Dairy Sci.* v. 95, p.5221–5241, 2012.

LITTELL, R. C., G. A. MILLIKEN, W. W. STROUP, R. D. WOLFINGER, AND O. SCHABENBERGER. 2006. *SAS for mixed models*, SAS Institute Inc., Cary, USA.

LOCK, A. L., BAUMAN, D. E. Dairy products and milk fatty acids as functional food components. *Proc. Cornell Nutr. Conf.* (in press). Lock, A. L. and K. J. Shingfield. 2003.

LOCK, A. L., C. TYBURCZY, D. A. DWYER, K. J. HARVATINE, F. DESTAILLATS, Z. MOULOUGUI, L. CANDY, AND D. E. BAUMAN. *Trans*-10 octadecenoic acid does not reduce milk fat synthesis in dairy cows. *J. Nutr.* 137:71–76, 2007.

LOCK, A.L., K.J. SHINGFIELD. 2004. Optimising milk composition. In: *Dairying – Using Science to Meet Consumers’s Needs*. Occasional Publication No 29 of the British Society of Animal Science Nottingham University Press. Loughborough, UK. p. 107–108.

LOFTEN, J. R.; LINN, J. G.; DRACKLEY, J. K. et al. Invited review: Palmitic and stearic acid metabolism in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, v. 97, p. 4661-4674, 2014.

LUCAS, H. L. EXTRA-PERIOD LATIN-SQUARE CHANGE-OVER DESIGNS. *J Dairy Sci*, v. 40, p. 225-239, 1957.

MAIA, F.J.; BRANCO, A.F.; MOURO, G.F.; et al. Inclusão de fontes de óleo na dieta de cabras em lactação: produção, composição e perfil dos ácidos graxos do leite. *R. Bras. Zootec.*, v.35, p.1504-1513, 2006.

MAIA, M.R.R.; CHAUDHARY, L.C.; BESTWICK, C.S.; et al. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. *Microbiol.*, v.10, p.1-10, 2010.

MARKIEWICZ-KĘSZYCKA, M., CZYŻAK-RUNOWSKA, G., LIPÍŃSKA, P. & WÓJTOWSKI, J. Fatty acid profile of milk - a review. *Bull. Vet. Inst.* v.57, p.135-139, 2013.

MARTIN CA, ALMEIDA VV, RUIZ MR, VISENTAINER JEL, MATSHUSHITA M, SOUZA NE, et al. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: importance and occurrence in foods. *Nutrition Journal*. 2006; 19: 761–770.

MARTIN, C.; MORGAVI, D. P. AND DOREAU, M. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal* 4:351-365, 2010.

MARTIN, C.; ROUEL, J.; JOUANY, J.P. et al. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. *J. Anim. Sci.*, v. 86, p. 2642-2650, 2008.

MARTIN, S.A.; JENKINS, T.C. Factors affecting conjugated linoleic acid and transC18:1 fatty acid production by mixed ruminal bacteria. *J. Anim. Sci.*, v.80, n.12, p.3347-3352, 2002.

McNAMARA DJ: Dietary fatty acids, lipoproteins, and cardiovascular disease. *Adv Food Nutr Res.* 36:253-351, 1992.

MELO, A.A.S.; FERREIRA, M.A.; VÉRAS, A.S.C.; et al. Desempenho leiteiro de vacas alimentadas com caroço de algodão em dieta à base de palma forrageira. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.41, p.1165-1171, 2006.

MENSINK, R.P.; ZOCK, P.L.; KESTER, A.D.; KATAN, M.B. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: A meta-analysis of 60 controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.* 77, 1146–1155, 2003.

MERTENS, D. R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:1463-1481, 1997.

MIR, Z., GOONEWARDENE, L. A., OKINE, E., JAEGAR, S. AND SCHEER, H. D. Effect of feeding canola oil on constituents, conjugated linoleic acid (CLA) and long chain fatty acids in goats milk. *Small Rum. Res.* v.33, p.137–143, 1999.

MOORE, J. H.; CHRISTIE, W. W. Digestion, absorption and transport of fats in ruminant animals. In: WISEMAN, J. (Ed.). *Fats in Animal Nutrition*. London: Butterworths, UK, 1984. p. 123-149.

MOORE, J.A., R.S. SWINGLE, AND W.H. HALE. Effects of whole cottonseed, cottonseed oil, or animal fat on digestibility of wheat straw diets by steers. *J. Anim. Sci.* 63: 1267-1273, 1986.

MOSLEY, S.A.; MOSLEY, E.E.; HATCH, B.; et al. Effect of varying levels of fatty acids from palm oil on feed intake and milk production in Holstein cows. *J Dairy Sci.*, v.90, p.987-993, 2007.

MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V. et al. Technical Note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *J. Anim. Sci.*, v.82, n.1, p.179-183, 2004.

NAM, I. S., GARNSWORTHY, P. C. Biohydrogenation of linoleic acid by rumen fungi compared with rumen bacteria. *J. Appl. Microbiol.*, v. 103, p. 551–556, 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2001. 387p

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient Requirements of Small Ruminants. National Academic Press. 2007 Washington, DC.

NETER, J. AND W. WASSERMAN. 1974. *Applied linear statistical models*, Richard D. Irwin, Inc., Homewood.

NOBLE, R. C. 1981. Digestion, transport and absorption of lipids. In: W. W. Christie (Ed.) Lipid metabolism in ruminant animals. pp. 57-93. Pergamon Press Ltd., Oxford, UK.

O'DONNELL-MEGARO, A. M.; BARBANO, D. M.; BAUMAN, D. E. Survey of fatty acid composition of retail milk in the United States including regional and seasonal variations. *J Dairy Sci.*, v. 94, p. 59-65, 2011.

OGUZ, F.K.; OGUZ, M.N.; BUYUKOGLU, T.; SAHINDURAN, S. Effects of varying levels of whole cottonseed on blood, milk and rumen parameters of dairy cows. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* v.19, p. 852-856, 2006.

PALMQUIST D.L., BEAULIEU A.D., BARBANO D.M., Feed and animal factors influencing milk fat composition, *J. Dairy Sci.* 76, 1753–1771, 1993.

PALMQUIST D.L., JENKINS T.C., Fat in lactation rations for dairy: a review, *J. Dairy Sci.* 63, 1–14, 1980.

PALMQUIST, D. L. Digestibility of cotton lint fiber and whole oilseeds by ruminal microorganisms. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v. 56, n. 3, p. 231-242, 1995.

PALMQUIST, D.L., A.L. LOCK, K.J. SHINGFIELD, AND D.E. BAUMAN. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. *Advances in Food and Nutrition Research* 50:179-217, 2005.

PALMQUIST, D.L., JENKINS, T.C. Challenges with fats and fatty acid methods. *J. Anim. Sci.* (In press), 2003.

PARK, Y. W., JUÁREZ, M., RAMOS, M., & HAENLEIN, G. F. W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Rumin. Res.*, v.68, p.88-113, 2007.

PARODI, P. W. Cows' Milk Fat Components as Potential Anticarcinogenic Agents. *J. Nutr.*, v. 127, p. 1055–1060, 1997.

PIRES, A.V., M.L. EASTRIDGE, J.L. FIRKINS, AND Y.C. LIN. Effects of heat treatment and physical processing of cottonseed on nutrient digestibility and production performance by lactating cows. *J. Dairy Sci.* 80: 1685-1694, 1997.

RIBEIRO, C. G. S. *Produção e composição do leite de vacas alimentadas com capim-elefante suplementado com óleo de girassol*. 2013. 192f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

RODRIGUES, C.A.F.; RODRIGUES, M.T.; BRANCO, R.H. et al. Influência da condição corporal e da concentração de energia nas dietas no parto sobre o desempenho de cabras em lactação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, p.1560-1567, 2006.

RODRIGUEZ, N. M. Valor nutritivo do farelo de arroz para ruminantes. Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG, 1984. 127p. Tese para Professor Titular na Escola de Veterinária de UFMG.

ROGÉRIO, M. C. P. Valor nutritivo de subprodutos de frutas para ovinos. Belo Horizonte, Escola de Veterinária de UFMG, 318p. 2005. Tese de doutorado.

ROGÉRIO, M.C.P. et al. Uso do caroço de algodão na alimentação de ruminantes. *Arq. Ciênc. Vet. Zool.* v.6, n.1, p.85-90, 2003.

RUFINO JUNIOR, J; CARVALHO, D.M.G; SOUZA, J.G.; CABRAL, L.S.; SILVA, J.J.; RIBEIRO, M.D.; ARNOLDO, T.L.Q.; OLIVEIRA, A.S.; SOARES, J.Q. Caroço de algodão em dietas sem volumoso para cordeiros confinados. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 36, n. 4, p. 2727-2738, 2015.

RUSSEL, J.B., O'CONNOR, J.D., FOX, D.G., VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.*, 70(11):3551-3561, 1992.

SANTOS-SILVA J; BESSA RJB; SANTOS-SILVA F. Effect of genotype feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: II Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science*. 2002; 77: 187–194.

SCHAEFER E.J. Lipoproteins, nutrition and heart disease. *Am. J. Clin. Nut.*, v. 75, p.191-212, 2002.

SCHINGOETHE, D.J.; BROUK, M.J.; LIGHTFIELD, K.D. et al. Lactational responses of dairy cows fed unsaturated fat from extruded soybeans or sunflower seeds. *J Dairy Sci.*, v.79, p.1244-1249, 1996.

SCHMIDELY, P.; MORAND-FEHR, P. Effects of intravenous infusion of trans-10, cis 12 or cis9, trans-11 conjugated linoleic acid (CLA) on milk fat synthesis and composition in dairy goats during mid-lactation. *S. Afri. J. Anim. Sci.*, v.34, p. 195-197, 2004.

SELEGATO, A. L. M., GENTIL, R. S., NOLLI, C. P., FERREIRA, E. M., PIRES, A. V., ALMEIDA, O. C., PARENTE, M. O. M., POLIZEL, D. M., SUSIN, I. (2015). Association

between soybean oil and fish oil in the diet of lactating goats as a strategy to improve milk fatty acids profile. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 67(5), 1429-1437.

SELNER, D. R., SCHULTZ, R. H. Effects of feeding oleic acid or hydrogenated vegetable oils to lactating cows. *J. Dairy Sci.*, v. 63, p. 1235–1241, 1980.

SERMENT, A., P. SCHMIDELY, S. GIGER-REVERDIN, P. CHAPOUTOT, D. SAUVANT. Effects of the percentage of concentrate on rumen fermentation, nutrient digestibility, plasma metabolites, and milk composition in mid-lactation goats. *J. Dairy Sci.*, Volume 94 , Issue 8 , 3960 – 3972, 2011.

SHINGFIELD, K. J., A. SABO, P.-C. SABO, V. TOIVONEN, AND J. M. GRIINARI. Effect of abomasal infusions of a mixture of octadecenoic acids on milk fat synthesis in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 92:4317–4329, 2009.

SHINGFIELD, K. J.; BERNARD, L.; LEROUX, C. et al. Role of *trans*fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal*, v. 4, p. 1140-1166, 2010.

SHINGFIELD, K. J.; GRIINARI, J. M. Role of biohydrogenation intermediates in milk fat depression. *European Journal of Lipid Science and Technology*. V. 109, p. 799–816, 2007.

SHINGFIELD, K. J.; ROUEL, J.; CHILLIARD, Y. Effect of calcium salts of a mixture of conjugated linoleic acids containing *trans*-10 *cis*-12 in the diet on milk fat synthesis in goats. *Br. J. Nutr.*, v. 101, p. 1006-1019, 2009.

SHINGFIELD, K.J., AHVENJARVI, S., TOIVONEN, V., et al. Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. *Anim. Sci.* 77:165-179, 2003.

SMITH, N.E.; COLLAR, L.S.; BATH, D.L.; et al. Digestibility and effects of whole cottonseed fed to lactating cows. *J. Dairy Sci.*, v.64, p.2209-2215, 1981.

STEINHART, H.; RICKERT, R.; WINKLER, K. Identification and analysis of conjugated linoleic acid isomers (CLA). *Eur. J. Med. Res.*, v. 8, p. 370-372, 2003.

STOFFEL, C. M.; CRUMP, P. M.; ARMENTANO, L. E. Effect of dietary fatty acid supplements, varying in fatty acid composition, on milk fat secretion in dairy cattle fed diets supplemented to less than 3% total fatty acids. *Journal of Dairy Science*, v. 98, p. 431 - 442. 2014.

SULLIVAN, H.M., BERNARD, J.K.; AMOS, H.A.; JENKINS, T.C. Effect of feeding whole cottonseed with elevated concentrations of free fatty acids on performance of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.87, p.665, 2004.

TEMPELMAN, R. J. Experimental design and statistical methods for classical and bioequivalence hypothesis testing with an application to dairy nutrition studies. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 82, n. E162-E172, 2004.

TIMMEN H., & PATTON S. Milk fat globules: fatty acid composition, size and *in vivo* regulation of fat liquidity. *Lipids*. 23:685–689, 1988.

TORAL PG, BELENGUER A, SHINGFIELD KJ, HERVÁS G, TOIVONEN V. FRUTOS P. Fatty acid composition and bacterial community changes in the rumen fluid of lactating sheep fed sunflower oil plus incremental levels of marine algae. *J Dairy Sci.* ; v.95, p.794–806, 2012.

TORAL, P. G., J. ROUEL, L. BERNARD, AND Y. CHILLIARD. Interaction between fish oil and plant oils or starchy concentrates in the diet: Effects on dairy performance and milk fatty acid composition in goats. *Anim. Feed Sci. Technol.* 198:67–82, 2014.

TORAL, P.G. , L. BERNARD, Y. CHILLIARD, F. GLASSER. Short communication: Diet-induced variations in milk fatty acid composition have minor effects on the estimated melting point of milk fat in cows, goats, and ewes: Insights from a meta-analysis. *J. Dairy Sci.*, 96, p. 1232-1236, 2013.

ULBRIGHT, T. I. V.; SOUTHGATE, D. A. T. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*, v. 338, p. 985-992, 1991.

VAN NEVEL, C. J., and D. I. DEMEYER. Lipolysis and biohydrogenation of soybean oil in the rumen in vitro: Inhibition by antimicrobials. *J. Dairy Sci.* 78:2797-2806, 1995.

VAN SOEST, P. J. 1982. Lipids. In: P. J. Van Soest (ed.) *Nutritional Ecology of the Ruminant*. pp 325-336. Cornell University Press, Ithaca, NY.

VARGAS-BELLO-PÉREZ, E.; FEHRMANN-CARTES, K.; ÍÑIGUEZ-GONZÁLEZ, G. Short communication: Chemical composition, fatty acid composition, and sensory characteristics of Chanco cheese from dairy cows supplemented with soybean and hydrogenated vegetable oils. *J. Dairy Sci.*, v.98, p.111–117, 2015.

VILLALBA, J.J.; MILLER, J.; HALL, J.O. Preference for tanniferous (*Onobrychis viciifolia*) and non-tanniferous (*Astragalus cicer*) forage plants by sheep in response to challenge infection with *Haemonchus contortus*. *Small Rumin. Res.* v.112,p.199–207, 2013.

VILLELA, S.D.J; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C. et al. Caroço de algodão para vacas leiteiras. 3. Efeito na eficiência microbiana, concentração de amônia e pH ruminais. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 26, n. 1, p. 195-200, 1997.

VLAEMINCK B, GERVAIS R, RAHMAN MM, GADEYNE F, GORNIAC M, DOREAU M, FIEVEZ V. Postruminal synthesis modifies the odd- and branched-chain fatty acid profile from the duodenum to milk. *J Dairy Sci.* 98:4829–4840, 2015.

WACHIRA, A.M., SINCLAIR, L.A., WILKINSON, R.G., et al. Rumen biohydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acids and their effects on microbial efficiency and nutrient digestibility in sheep. *J. Agric. Sci.*, v.35, p.419-428, 2000.

WEIMER, P.J. Why don't ruminal bacteria digest cellulose faster? *J.Dairy Sci.* v. 79, n. 8, p. 1496–1502, Aug. 1996.

WOLFF, R. L.; BAYARD, C. C.; FABIEN, R.J. Evaluation of sequential methods for the determination of butterfat fatty acid composition with emphasis on trans-18:1 acids. Application to the study of seasonal variations in french butters. *Journal of the American Oil Chemists Society*. Vol. 72, n. 12, p. 1471-1483, 1995.

WU, Z., O. A. OHAJURUKA, and D. L. PALMQUIST. Ruminal synthesis, biohydrogenation, and digestibility of fatty-acids by dairy-cows. *J. Dairy Sci.* 74(9):3025-34, 1991.