



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ANTONIO JOELSON NETTO

GÉRMEN INTEGRAL DE MILHO EXTRA GORDO EM DIETA PARA VACAS
EM LACTAÇÃO

RECIFE

2022

ANTONIO JOELSON NETTO

**GÉRMEN INTEGRAL DE MILHO EXTRA GORDO EM DIETA PARA VACAS
EM LACTAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco para obtenção do título de Doutor em Zootecnia

Área de concentração: Zootecnia

Orientador(a) Prof. Dr. Marcelo de Andrade Ferreira

Coorientadores: Dr. Marco Antonio Sundfeld Da Gama

Dr. Sebastião Inocência Guido

RECIFE

2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N476g Netto, Antonio Joelson Netto
 GÉRMEN INTEGRAL DE MILHO EXTRA GORDO EM DIETA PARA VACAS EM LACTAÇÃO / Antonio
 Joelson Netto Netto. - 2022.
 97 f.

 Orientador: Marcelo de Andrade Ferreira.
 Coorientador: Marco Antonio Sundfeld Da Gama.
 Inclui referências.

 Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Recife,
 2022.

 1. biohidrogenação. 2. coprodutos. 3. gordura. 4. saúde humana. 5. semiárido. I. Ferreira, Marcelo de Andrade,
 orient. II. Gama, Marco Antonio Sundfeld Da, coorient. III. Título

CDD 636

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e a possibilidade de empreender esse caminho evolutivo, por propiciar tantas oportunidades de estudos e por colocar em meu caminho pessoas amigas e preciosas.

A minha avó, Dona Neuza, por ter cuidado de mim até os dias de hoje, por sempre me ajudar desde criança a seguir o caminho certo.

A toda a minha família, especialmente minha esposa, Ayane, que sempre esteve do meu lado me dando força, incentivo e me ajudando nas horas mais difíceis.

Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Marcelo de Andrade Ferreira, pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos. Os seus ensinamentos foram muito além dos conteúdos da sala de aula.

Ao meu Co-orientador Dr. Marco Gama por tantos ensinamentos, humildade e paciência que teve comigo, pessoa de uma inteligência inexplicável.

À equipe de servidores do IPA- São Bento do Una, por toda paciência que teve comigo e atenção durante o experimento.

A todos os professores do PPGZ/UFRPE por todo ensinamento proporcionado nesses quatro anos de Doutorado.

A todos os meus amigos e colegas da UFRPE que contribuíram para realização desse sonho, especialmente, Jonas, Darlan, Michele, Glaucia, Carol, Robert e Seu Pedro.

Enfim, a todos aqueles que de uma maneira ou de outra contribuíram para que este percurso pudesse ser concluído.

MUITO OBRIGADO!

*Dedico à minha avó, Dona Neuza, e
toda minha família e amigos*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Gérmen integral de milho.....	3
2.2 Digestão e metabolismo de ácidos graxos em ruminantes.....	6
2.3 Utilização de gordura suplementar em dietas para vacas em lactação.....	10
2.4 Propriedades bioativas dos ácidos graxos do leite de ruminantes: importância na promoção da saúde.....	12
2.4.1 Ácidos graxos de cadeia curta.....	13
2.4.2 Ácidos graxos de cadeia ímpar e ramificada (AGCIR).....	14
2.4.3 Ácidos graxos <i>trans</i>	15
2.4.4. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6.....	17
2.4.5 Ácido linoleico conjugado (CLA).....	18
2.4.5.1 Efeitos do CLA sobre o câncer em animais e humanos.....	19
2.4.5.2 Efeitos do CLA sobre o peso e composição corporal em animais e humanos	20
2.4.5.3 Efeitos específicos do isômero <i>cis</i> -9 <i>trans</i> -11 CLA e <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 CLA.....	21
3. REFERÊNCIAS.....	23
CAPÍTULO 1. Gérmen integral de milho extra gordo em dieta para vacas em lactação: consumo, digestibilidade dos nutrientes, produção e composição do leite.....	36
Resumo.....	37
Abstract.....	38
1. INTRODUÇÃO.....	39
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	40
2.1 Cuidados com animais e local do experimento.....	40
2.2 Animais, delineamento experimental e dietas.....	40
2.3 Coleta de dados e amostras.....	43
2.4 Análises Químicas.....	43
2.5 Cálculos.....	44
2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	46
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
4. CONCLUSÃO	54
5. REFERÊNCIAS.....	55

CAPÍTULO 2. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas recebendo diferentes níveis de gérmen integral de milho extra gordo em dieta contendo palma forrageira e cana-de-açúcar como fontes de volumoso.....	60
Resumo.....	61
Abstract.....	62
1. INTRODUÇÃO.....	63
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	64
2.1 Cuidados com animais e local do experimento	64
2.2 Animais, design experimental e dietas.....	64
2.3 Coleta de dados e amostras.....	68
2.4 Procedimentos analíticos	68
2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	70
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	70
4. CONCLUSÃO	81
5. REFERÊNCIAS.....	82

LISTAS DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1 Composição química (% na MS) do fubá milho e gérmen integral de acordo com o tipo de processamento do milho.....	5
--	---

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Composição química dos ingredientes da ração (g/kg de MS) utilizados nas dietas experimentais.....	41
Tabela 2. Proporção de ingredientes e composição química (g/kg de MS) das dietas experimentais dietas experimentais.....	42
Tabela 3. Consumo e digestibilidade dos nutrientes em vacas alimentadas com níveis crescentes de GIMEX.....	47
Tabela 4. Balanço e eficiência de nitrogênio, síntese e eficiência de proteína microbiana em vacas alimentadas com níveis crescentes de GIMEX.....	48
Tabela 5. Produção, composição do leite e eficiência alimentar de vacas alimentadas com níveis crescentes de GIMEX)	49

CAPÍTULO 2

Tabela 1 Composição química (g/kg de MS) dos ingredientes da ração utilizados nas dietas experimentais.....	66
Tabela 2. Proporção de ingredientes e composição química (g/kg de MS) das dietas experimentais	67
Tabela 3 Concentrações de metabólitos sanguíneos (mg/L) em vacas alimentadas com níveis crescentes de GIMEX.....	71
Tabela 4 Composição de ácidos graxos do leite (g/100g de AG total) de vacas alimentadas com níveis crescentes de GIMEX.....	73
Tabela 5 Proporções (g/100 g de AG total) de AG C18 na gordura do leite de vacas alimentadas com níveis de GIMEX.....	74
Tabela 6 Proporções (g/100g de AG total) dos principais grupos de ácidos graxos (AG) e razões entre AGs na gordura do leite de vacas alimentadas com níveis crescentes de GIMEX.....	76

LISTAS DE FIGURAS
REVISÃO DE LITERATURA

FIGURA 1. Estrutura do grão de milho.....	3
FIGURA 2. Vias principais e “ <i>trans</i> -10 shifted” de biohidrogenação ruminal do ácido linoleico e ácido α -linolênico.....	9

GÉRMEN INTEGRAL DE MILHO EXTRA GORDO EM DIETA PARA VACAS EM LACTAÇÃO

Resumo: Objetivou-se investigar os efeitos do germen integral de milho extra gordo (GIMEX) sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes, balanço e eficiência de utilização de nitrogênio (N), metabólitos sanguíneos, produção de proteína microbiana, produção e composição do leite, perfil de ácidos graxos (AG) da gordura do leite de vacas em lactação. Dez vacas da raça Holandês com 90 ± 10 dias de lactação e produção de $24,2 \pm 3,5$ kg de leite/dia foram distribuídas em tratamentos dietéticos que consistiram de níveis crescentes de GIMEX (0; 4; 8; 12 e 16%) com base na matéria seca (MS) em um delineamento Quadrado Latino 5 x 5 replicado com períodos de 21 dias. Todas as dietas continham proporções semelhantes de palma forrageira (*Opuntia stricta* [Haw]. Haw), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L) e concentrado (34:32:34, respectivamente), mas o fubá de milho foi gradualmente substituído (0; 25; 50; 75 e 100%) pelo GIMEX no concentrado. Com exceção do consumo de EE, que aumentou linearmente, os consumos de todos os nutrientes decresceram linearmente com a inclusão de GIMEX. A digestibilidade da MS, MO e FDN reduziu, enquanto a do EE aumentou linearmente com a inclusão do GIMEX. A inclusão do GIMEX diminuiu o consumo de N e a excreção diária de N na urina e nas fezes, enquanto a eficiência de utilização do N aumentou linearmente. A excreção máxima de N foi estimada em 130 g/dia com 7,15% de inclusão do GIMEX. A produção de leite variou de forma quadrática, com maior produção de leite estimada em 25,4 kg/dia com 7,6% de inclusão do GIMEX. Por outro lado, a produção de leite corrigida para gordura (PLC) reduziu linearmente com a inclusão do GIMEX. A concentração de gordura e sólidos totais diminuíram linearmente, enquanto as concentrações de proteína e lactose do leite não foram alteradas com a inclusão GIMEX. Os níveis de colesterol sérico aumentaram linearmente (756 a 1,480 mg/L) com a inclusão de GIMEX. Com exceção dos isômeros *trans*-16:1, as proporções de ácidos graxos de cadeia curta e média na gordura do leite diminuíram de forma linear, ou apresentaram comportamento quadrático com a inclusão do GIMEX, enquanto o oposto foi observado para os isômeros 18:0 e de 18:1/18:2, incluindo aqueles com ligações duplas conjugadas. Ocorreu uma mudança de *trans*-11 para *trans*-10 (aumento linear) com a inclusão do GIMEX, resultando em um comportamento quadrático nas concentrações de *trans*-11 18:1 (máximo de 2,51g/100g de AG total, estimado com 9,17% de GIMEX) e *cis*-9, *trans*-11 CLA (máximo de 1,31g/100g de AG total, estimado com 8,88% de GIMEX) e aumento linear em *trans*-10 18:1, *trans*-10, *cis*-12 CLA e *trans*-9, *cis*-11 CLA. O GIMEX pode ser considerado como uma alternativa aos óleos vegetais em programas de alimentação destinados à produção de leite enriquecido com CLA. No entanto, a inclusão do GIMEX em dietas a base de palma forrageira (34%) e cana-de-açúcar (32%) reduz o teor de gordura do leite de vacas, e isso pode trazer prejuízos financeiros para o produtor de leite.

Palavras chave: biohidrogenação, coprodutos, gordura, saúde humana, semiárido

EXTRA-FAT WHOLE CORN GERM IN DIET FOR LACTING COWS

Abstract: The objective was to investigate the effects of extra-fatty whole corn germ (EFWCG) on nutrient intake and digestibility, nitrogen (N) utilization efficiency, blood metabolites, mycobrian protein production, milk production and composition, acid profile fatty acids (FA) from milk fat from lactating cows. Ten Holstein cows with 90 ± 10 days of lactation and production of 24.2 ± 3.5 kg of milk/day were assigned to diet treatments consisting of increasing levels of EFWCG (0; 4; 8; 12 and 16%) based on dry matter (DM) in a 5 x 5 Latin square design replicated with periods of 21 days. All diets contained similar proportions of forage cactus (*Opuntia stricta* [Haw]. Haw), sugarcane (*Saccharum officinarum*) and concentrate (34:32:34, respectively), but cornmeal was gradually replaced (0; 25; 50; 75 and 100%) by EFWCG in the concentrate. With the exception of EE consumption, which increased linearly, the consumption of all nutrients decreased linearly with the inclusion of EFWCG. The digestibility of DM, MO and NDF reduced, while that of EE increased linearly with the inclusion of EFWCG. The inclusion of EFWCG decreased N consumption and daily N excretion in urine and feces, while the N utilization efficiency increased linearly with the inclusion of EFWCG. Maximum N excretion was estimated at 130 g/day with 7.15% inclusion of EFWCG. Milk production varied quadratically, with the highest milk production estimated at 25.4 kg/day with 7.6% inclusion of EFWCG. Milk production varied quadratically, with the highest milk production estimated at 25.4 kg/day with 7.6% inclusion of EFWCG. On the other hand, the production of milk corrected for fat (MCF) linearly reduced with the inclusion of EFWCG. The concentration of fat and total solids decreased linearly, while the concentrations of milk protein and lactose were not altered with the inclusion of EFWCG. Serum cholesterol levels increased linearly (756 to 1.480 mg/L) with the inclusion of EFWCG. With the exception of the *trans*-16:1 isomers, the proportions of short- and medium-chain fatty acids in milk fat decreased linearly or showed a quadratic behavior with the inclusion of EFWCG, while the opposite was observed for the 18:0 and of 18:1/18:2, including those with conjugated double bonds. There was a change from *trans*-11 to *trans*-10 (linear increase) with the inclusion of EFWCG, resulting in a quadratic behavior in the concentrations of *trans*-11 18:1 (maximum of 2.51g/100g of total FA, estimated with 9.17% EFWCG) and *cis*-9, *trans*-11 CLA (maximum 1.31g/100g total FA, estimated at 8.88% EFWCG) and linear increase in *trans*-10 18:1, *trans*-10, *cis*-12 CLA and *trans*-9, *cis*-11 CLA. EFWCG should be considered as an alternative to vegetable oils in feeding programs intended for the production of milk enriched with CLA. However, the inclusion of EFWCG in diets based on forage palm (34%) and sugar cane (32%) reduces the fat content of cow's milk, and this can bring financial losses to the milk producer.

Keywords: biohydrogenation, co-products, fat, human health, semi-arid

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os animais de produção têm sido submetidos à seleção genética desde o início de sua domesticação (DEWANCKELE et al., 2020). Por consequência do intenso melhoramento genético em vacas leiteiras nas últimas décadas, o consumo de energia tornou-se um fator limitante para a produção de leite, devido à maior demanda energética desses animais, que muitas vezes, excede a capacidade de consumir energia da dieta, o que pode comprometer o desempenho produtivo e a competitividade dos sistemas de produção.

Esse problema se torna mais agravante em regiões de clima semiárido, onde se tem irregularidades de precipitação pluviométrica e baixa disponibilidade de forragem ao longo do ano. Nessas condições, é muito comum, principalmente no período seco do ano, que produtores de leite aumentem a oferta de alimentos concentrados, especialmente o fubá de milho, o que além de não resolver o problema, eleva os custos de produção e a ocorrência de casos de acidose ruminal subaguda em vacas leiteiras (PLAIZIER et al., 2008).

Para superar esses problemas, a utilização de fontes de gordura suplementar tem sido recomendada para aumentar a densidade energética da dieta e maximizar a produção de vacas leiteiras (PALMQUIST e JENKINS, 2017). Além disso, a gordura dietética pode contribuir para redução do incremento calórico, fator importante em épocas de altas temperaturas, já que as vacas leiteiras estão pré-dispostas ao estresse térmico (COLLIER et al., 2019).

Outra vantagem da suplementação lipídica é a oportunidade de manipular o perfil de ácidos graxos do leite de ruminantes, uma vez que a gordura do leite contém inúmeros compostos bioativos com potenciais efeitos benéficos à saúde humana, como *cis-9 trans-11 CLA* (ácido rumênico), *trans-11 18:1* (ácido vacênico) e *cis-9 C18:1* (ácido oleico) (YANG et al., 2015; FUKU e NORBERG, 2017; DEN HARTIGH, 2019).

Essas respostas podem variar dependendo de fatores dietéticos, como a composição da dieta basal, quantidade e fonte de gordura utilizada. Geralmente os efeitos benéficos da gordura suplementar são obtidos quando consumo e digestibilidade dos nutrientes não são comprometidos (NRC, 2001).

O uso estratégico de alimentos economicamente viáveis, como coprodutos ricos em gordura, pode ser uma alternativa para favorecer o processamento da ração e reduzir a necessidade de inclusão de óleos vegetais nas dietas de vacas leiteiras, que geralmente são de alto custo e mais susceptíveis a oxidação. Dentro desse contexto, o gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX) pode ser uma alternativa aos lipídios vegetais (óleos e sementes oleaginosas), pois apresenta alto teor de gordura (~50% de extrato etéreo - EE), além de ser rico em ácido linoleico (18:2 n-6) e oleico (*cis*-9 18:1) (Ingredion™). No entanto, não há evidências suficientes para indicar o GIMEX como fonte de gordura segura e viável na dieta de vacas leiteiras. Apenas Miller et al. (2009) verificaram que a suplementação de GIMEX aumentou as proporções de *trans*-11 18:1 e *cis*-9, *trans*-11 CLA na gordura do leite de vacas, mas sem efeito na produção de leite, quando comparadas com quantidades equivalentes de gordura (5,3% EE) derivadas de semente de algodão integral ou sebo.

A palma forrageira (*Opuntia e Nopalea*) é comumente utilizada na alimentação ruminantes em regiões semiáridas do Brasil (FERREIRA et al., 2020) e em outras regiões de clima seco ao redor do mundo (TORADO et al., 2020), principalmente devido suas características nutricionais e morfofisiológicas (SANTOS et al., 2018). Quando fornecida em associação com outras fontes de volumosos convencionais na dieta, a palma forrageira promoveu efeitos positivos sobre o desempenho de vacas leiteiras (INÁCIO et al., 2019; MORAES et al., 2019; PAULA et al., 2019). Além disso, foi verificado um aumento acentuado do leite enriquecido com *trans*-11 18:1 e *cis*-9, *trans*-11 CLA em vacas alimentadas com palma forrageira (*Opuntia stricta* [Haw]. Haw) como substituto parcial da silagem de sorgo em dietas suplementadas com óleo de soja (GAMA et al., 2020).

O presente estudo foi idealizado para explorar adicionalmente os resultados promissores encontrados por Gama et al. (2020). Como a adição de óleos vegetais (na forma livre) em dietas de vacas leiteiras não é uma prática comum e normalmente é de alto custo, hipotetizamos que o GIMEX poderia ser uma fonte de gordura mais viável para aumentar a produção de leite e o aporte ruminal de *trans*-11 18:1 para a glândula mamária de vacas que consomem uma dieta basal contendo palma forrageira (*Opuntia stricta* [Haw]. Haw). A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) em vez da silagem de sorgo foi usada como fonte de fibra fisicamente efetiva no presente estudo, pois ambas as forrageiras são comumente usadas em associação com palma forrageira em dietas de vacas leiteiras na região semiárida do Brasil (SIQUEIRA et al., 2019).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gérmen integral de milho

O milho é um alimento produzido em quase todos os continentes, sendo sua importância econômica caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, que vão desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia. O grão de milho é formado por quatro estruturas físicas: pericarpo, endosperma, gérmen e ponta, as quais diferem-se em composição química e na organização dentro do grão, conforme mostra a figura 1. O endosperma corresponde a 82% do grão e é constituído principalmente por amido (98%) e proteínas (74%). Por outro lado, o pericarpo e a ponta equivalem a 5% e 2% do grão de milho, respectivamente, sendo compostos majoritariamente por fibras. Já o gérmen representa 11% do grão e é rico em lipídios (83%), açúcares (69%) e proteínas (26%) (PAES, 2006).

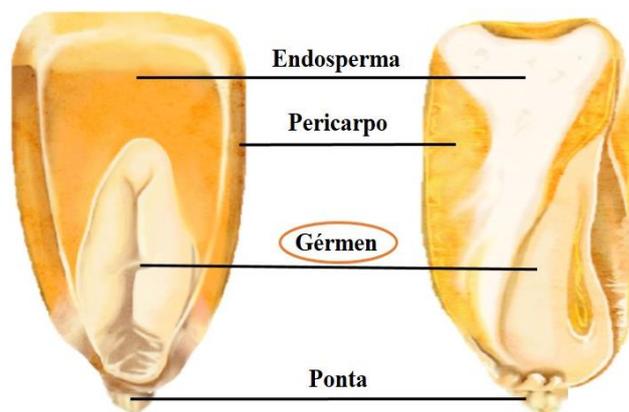


Figura 1: Estrutura do grão de milho

O gérmen de milho é um coproduto originado a partir do processamento do grão do milho por moagem seca (gérmen gordo) ou moagem úmida (gérmen extra gordo) (MOREAU et al., 2005). Esses processos podem ocasionar diferenças consideráveis na composição nutricional do gérmen, conforme Tabela 1.

A instabilidade na composição do gérmen encontrado pelos autores possivelmente está relacionada com qualidade ou eficiência de processamento do grão de milho. Independentemente da forma de processamento, o gérmen apresenta maiores concentrações de extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN), e menores concentrações de carboidratos não fibrosos (CNF), quando comparado ao fubá de milho (Tabela 1). Assim, a utilização do gérmen de milho pode proporcionar uma economia para formulação da dieta, pois é possível o atendimento das exigências

energética e proteica de animais consumindo uma menor quantidade deste ingrediente comparado a dietas com fubá de milho.

Tabela 1: Composição química (% na MS) do fubá milho e gérmen integral de milho de acordo com o tipo de processamento do milho

Ingredientes	MS	PB	EE	FDN	CNF	Referências
Fúba de milho	87,96	9,01	4,02	13,05	72,32	CQBAL 4.0
	90,2	10,50	11,0	15,7	59,6	Almeida et al. (2014)
	90,1	10,39	12,1	38,0	-	Calderando et al. (2010)
Gérmen integral gordo	95,0	15,8	19,9	22,8	36,0	Adbelqader et al. (2009a)
(Moagem seca)	94,0	15,8	20,0	24,5	36,0	Adbelqader et al. (2009b)
	83,3	19,7	11,6	18,8	43,1	Castro et al. (2009)
	83,2	12,9	15,6	21,2	46,7	Miotto et al. (2009)
	95,6	10,6	48,10	24,1	16,0	Silva et al. (2022)
	89,7	12,3	47,91	24,0	14,9	Galeano et al. (2022)
Gérmen integral extra gordo	95,4	12,7	44,3	55,7	-	Lopes et al. (2019)
(Moagem úmida)	96,4	11,5	49,5	-	-	Albuquerque et al. (2014)
	90,7	10,7	42,5	44,1	13,1	Silva et al. (2013)
	95,0	13,0	44,0	-	-	Miller et al. (2009)

Matéria seca (MS); proteína bruta (PB); extrato etéreo (EE); fibra em detergente neutro (FDN); carboidratos não fibrosos (CNF).

Como é possível observar na Tabela 1, apesar de o teor de proteína ser semelhante, as concentrações de gordura do gérmen obtido a partir dos processos por moagem a seco é menor (11 a 20% de EE), do que o obtido a partir da moagem úmida (42 a 50% de EE). Devido a esse alto teor de gordura, o gérmen obtido pelo processo de moagem úmida tem sido denominado de gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX) (GALEANO et al., 2022).

A concentração de gordura pode ser atribuída a diferenças na eficiência de separação ou degerminação entre os diferentes processamentos. Pela moagem a seco, a separação dos componentes do milho não é tão completa quanto na moagem úmida. Dessa forma, pequenas quantidades de pericarpo e endosperma permanecem aderidas ao gérmen, o que diminui sua concentração de gordura (RAUSCH e BELYEA, 2006).

É importante mencionar isso, pois a forma de processamento e concentração de gordura encontrada por moagem seca ou úmida é um fator que pode modificar os

processos de biohidrogenação ruminal (BH) e resultar em diferentes respostas na produção e síntese de gordura do leite de vacas em lactação. Apesar disso, as informações na literatura consultada sobre o grau de proteção ruminal do óleo presente no GIMEX são limitadas. Na verdade, existem algumas evidências de que o óleo presente no gérmen de milho obtido por meio da moagem a seco é relativamente protegido no rúmen (ABDELQADER et al., 2009a). Quanto ao GIMEX, nenhuma comparação foi feita com um grupo de óleo vegetal “livre”. Portanto, ainda não está claro até que ponto o óleo presente no GIMEX estaria disponível para BH ruminal.

Por meio da moagem úmida do milho, o GIMEX é extraído por diferença de densidade, uma vez que contém todo o óleo do milho, e em seguida é seco. Dessa forma, ele apresenta alto grau de pureza e integridade, o que proporciona produto final com alto teor de óleo e alta estabilidade (Ingredion™). A gordura presente no GIMEX é altamente insaturada, composta de aproximadamente 56% de ácido linoleico, 28% de ácido oleico, 11% de ácido palmítico, 2% de ácido esteárico, 1,3% de ácido linolênico e 0,5% de ácido araquidônico (MILLER et al., 2009).

Apesar de apresentar características nutricionais interessantes, o GIMEX tem sido pouco utilizado em dietas para vacas leiteiras. Quando comparado com quantidades equivalentes de gordura (5% de EE na dieta total) derivada do caroço de algodão ou sebo, o GIMEX melhorou a qualidade do leite de vacas (aumentou as proporções de *trans*-11 18:1 e *cis*-9, *trans*-11 CLA) mas com teor reduzido da gordura do leite, quando comparado ao caroço de algodão (MILLER et al., 2009).

Por outro lado, Galeano et al. (2022) mostraram que a substituição total do fubá de milho por GIMEX em dietas à base de palma forrageira (*Opuntia stricta* [Haw]. Haw) e capim elefante aumenta a produção sem comprometer teor de gordura do leite de cabras em lactação. Segundo esses autores, a inclusão de 9,5% de GIMEX (6,2% de EE na dieta total) em dietas à base de palma forrageira e capim elefante pode ser uma opção para maximizar o desempenho de cabras em lactação.

No entanto, vale salientar que cabras demonstraram ser menos suscetíveis aos efeitos adversos da gordura suplementar sobre a fermentação ruminal e depressão na gordura do leite (DGL), devido às particularidades relacionadas à atividade lipídica sobre o metabolismo ruminal, bem como à resistência da lipogênese mamária aos efeitos antilipogênicos dos ácidos graxos intermediários da BH (FOUGÈRE e BERNARD, 2019). Fougère et al. (2018) mostraram que dietas suplementadas com amido e óleo de

milho, algas marinhas ou óleo de palma hidrogenado modulam diferencialmente a secreção e composição da gordura do leite em vacas e cabras.

Portanto, é necessário realizar mais pesquisas com a utilização do GIMEX em dietas de vacas leiteiras a fim de definir com maior precisão o seu valor nutricional e de fornecer informações seguras sobre o nível ideal de sua utilização na formulação de rações.

2.2 Digestão e metabolismo de ácidos graxos em ruminantes

As dietas de vacas leiteiras contêm geralmente 4 a 5% de gordura bruta (base MS), correspondendo aproximadamente a 2,3 e 2,5% de ácidos graxos totais (PALMQUIST e JENKINS, 2003; SCHMIDELY et al., 2008). As fontes primárias de lipídios na dieta de ruminantes são forragens e concentrados, que contêm principalmente ácidos graxos insaturados (AGI) de 18 carbonos (ou seja, ácido α -linolênico, 18:3 n-3; ácido linoleico, 18:2 n-6; e ácido oleico, *cis*-9 18:1; FERLAY et al., 2017). Níveis mais elevados (>5% de EE) podem ser encontrados em dietas suplementadas com fontes de gordura.

O metabolismo dos ácidos graxos (AG) começa no rúmen através dos processos de hidrólise e biohidrogenação (BH). A extensão da BH é um dos principais determinantes dos perfis de AG de produtos de origem animal (leite, carne) (GLASSER et al., 2008). A hidrólise ocorre quando triglicerídeos e glicolipídios, presentes no concentrado e nas forragens, respectivamente, são convertidos em glicerídeos e AG livres por lipases microbianas (JENKINS, 1993). Após esse processo, os ácidos graxos não esterificados são liberados no rúmen e então os 18:3 n-3, 18:2n-6 e *cis*-9 18:1 são convertidos até o ácido esteárico (C18:0), por meio de uma isomerização *cis-trans* para intermediários de AG *trans*, seguido por hidrogenação das ligações duplas (HARFOOT e HAZLEWOOD, 1997).

Há relatos que a BH ocorre devido à toxicidade dos AGI para certos microrganismos presentes no ambiente ruminal (MAIA et al., 2010). O modo de ação das atividades antimicrobianas de AGI ainda não está claro, mas há evidências que as ligações duplas presentes no AGI alteram a forma da molécula e rompem a estrutura da bicamada lipídica, o que leva as bactérias preferirem os ácidos graxos saturados (AGS) para sua síntese de membrana (KEWELOH e HEIPIEPER, 1996).

Apesar do 18:0 ser considerado o principal AG que sai do rúmen (SHINGFIELD e WALLACE, 2014), a redução de AGI de 18 carbonos para 18:0 no rúmen é incompleta e numerosos intermediários (18:1, 18:2 e 18:3) se acumulam e podem ser incorporados nos produtos (leite, carne). A suplementação dietética com lipídios marinhos ricos em

AGI n-3 de cadeia longa (TORAL et al., 2017), bem como com polifenóis vegetais, como taninos condensados (VASTA et al., 2019) são duas estratégias dietéticas comumente usadas para promover uma BH incompleta e aumentar a saída de intermediário de BH, especialmente o *trans*-11 18:1, para glândula mamária.

Dependendo do tipo de dieta fornecida aos ruminantes, diferentes tipos de AG são depositados na carne ou leite. Sob condições normais do rúmen, 18:2 n-6 é principalmente isomerizado a *cis*-9, *trans*-11 18:2, que é ainda hidrogenado a *trans*-11 18:1 e finalmente a 18:0 (Figura 2). A principal via de BH de 18:3 n-3 envolve ácido linolênico conjugado *cis*-9, *trans*-11, *cis*-15 18:3, *trans*-11, *cis*-15 18:2 e *trans*-11 18:1 como intermediários (FERLAY et al., 2017).

Os lipídios vegetais (ricos em AGI C18) fornecem os substratos para o aumento direto da produção de 18:1 no rúmen (JENKINS et al., 2008). Por outro lado, a suplementação dietética com lipídios marinhos inibe de forma consistente a etapa final de BH para 18:0 (GAMA et al., 2008), resultando no acúmulo indireto de isômeros 18:1. Como resultado, a suplementação de lipídios marinhos para vacas leiteiras resulta em menores concentrações de AGS no rúmen, enquanto as concentrações de AGI e AGPI aumentam (BOECKAERT et al., 2007).

Quando dietas ricas em forragem são fornecidas a ruminantes, o *trans*-11 18:1 é o principal intermediário de BH que flui do rúmen e se acumula nos tecidos, enquanto o fornecimento de dietas ricas em amido, o principal intermediário de BH é o *trans*-10 18:1 (BESSA et al., 2005). Aumentar o fluxo ruminal de *trans*-11 18:1 é desejável, pois atua como substrato para a delta 9-dessaturase em tecidos animais, resultando na formação do ácido linoleico conjugado (CLA). Por outro lado, a acumulação de *trans*-10 18:1 pode promover depressão da gordura do leite - DGL (BAUMGARD et al., 2000).

Dietas que induzem a DGL muitas vezes resultam em maiores quantidades de AG intermediários 18:1 específicos e quantidades menores de intermediários 18:2 e 18:3 escapando do rúmen em comparação com situações normais. Essas alterações no metabolismo lipídico ruminal são acompanhadas por mudanças nos AG do leite em direção a uma proporção e produção reduzidas de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e média (AGCM), enquanto as proporções de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) aumentam; embora seu rendimento geralmente permaneça constante ou diminua (TORAL et al., 2015). Isso sugere uma inibição mais pronunciada da síntese *de novo* do que a captação de AG pré-formado na glândula mamária (BAUMAN e GRINARI, 2001). As poucas situações em que a absorção de AG pré-formado parecia ser mais

fortemente afetada do que a síntese *de novo* de AG (em uma base molar) foram associadas ao fornecimento de lipídios marinhos na dieta (REGO et al., 2005).

O deslocamento *trans-10 shift* foi identificado pela primeira vez por Leat et al. (1977). No entanto, apenas 20 anos depois, Griinari e Bauman (1999) especularam sobre as vias de BH ruminal que originam o *trans-10* 18:1, e por analogia com as vias bem estabelecidas que originam o *trans-11*, propuseram novas vias para a BH ruminal de ácido linoleico (18:2n-6) e ácido α -linolênico (18:3n-3) (Figura 2). Como o *trans-10*, *cis-12* 18:2 tem sido amplamente relatado na digesta de ruminantes e sua concentração aumenta junto com o *trans-10* 18:1, esta via proposta tornou-se amplamente aceita (ALVES e BESSA, 2014).

As vias de BH conhecidas como *trans-10 shift* e que induzem a DGL foram demonstradas em vacas leiteiras alimentadas com rações ricas em amido e suplementos de óleo vegetal (BAUMAN e GRIINARI, 2001). Esse deslocamento é caracterizado por aumentos no acúmulo ruminal do antilipogênico *trans-10*, ácido linoleico conjugado *cis-12* 18:2 e do *trans-10* 18:1 (CONTE et al., 2018). O *trans-10*, *cis-12* 18:2 mostrou ser produzido pela isomerização de 18:2 n-6 pela bactéria ruminal *Propionibacterium acnes*; no entanto, nenhuma metabolização adicional foi observada (ALVES e BESSA, 2014). A bactéria ruminal *Butyrivibrio fibrisolvens* demonstrou metabolizar o *trans-10*, *cis-12* 18:2 para *trans-10* 18:1 (MCKAIN et al., 2010). O papel dos microrganismos ruminais responsáveis pelas principais vias de BH e do deslocamento *trans-11/trans-10* 18:1 foi extensamente revisado por Dewanckele et al. (2020).

A via alternativa de BH de 18:3 n-3 proposta por Griinari e Bauman (1999) prevê a ocorrência de *trans-10*, *cis-12*, *cis-15* 18:3, o *trans-10*, *cis-15* 18:2 e o *trans-10* 18:1 como intermediários de BH (Figura 2). No entanto, ainda não foi demonstrado que o primeiro intermediário dessa via (*trans-10*, *cis-12*, *cis-15* 18:3) é gerado no rúmen. Por outro lado, apenas no ano de 2014, foi encontrada pela primeira vez a presença do *trans-10*, *cis-15* 18:2 em conteúdo ruminal, digesta abomasal e amostras de carne de bovinos e ovinos alimentados com dieta concentrada suplementada com fontes de 18:3 n-3 (ALVES e BESSA, 2014).

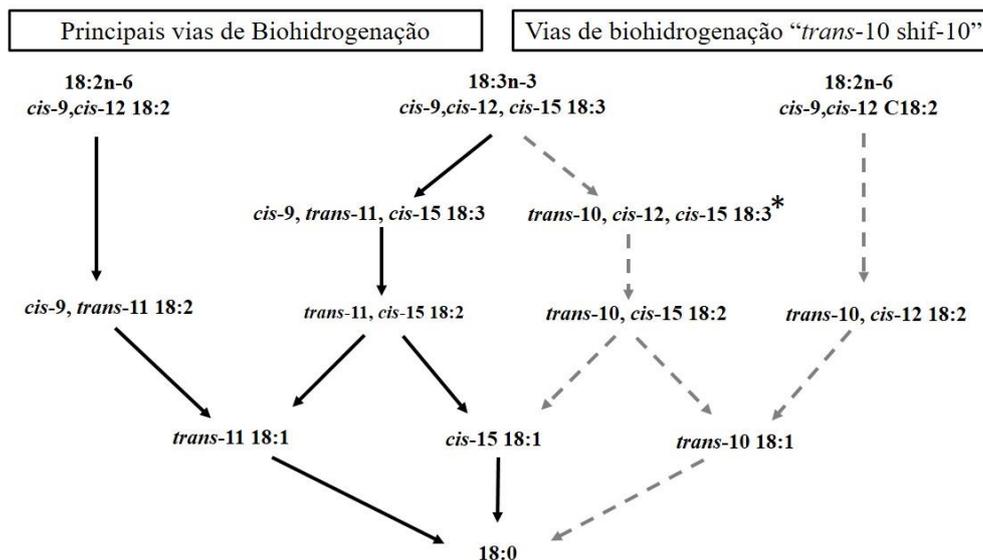


Figura 2: Vias principais e “trans-10 shifted” de BH ruminal do ácido linoleico ($18:2n-6$) e ácido α -linolênico ($18:3n-3$). As setas com linhas contínuas descrevem as principais vias de BH conhecidas (HARFOOT e HAZLEWOOD, 1997) e as linhas tracejadas descrevem as vias propostas por Griinari e Bauman (1999). *Ainda não identificados como intermediários de BH. **Fonte:** Adaptado de Alves e Bessa (2014).

Os AGs disponíveis para absorção no intestino delgado são aproximadamente 80 a 90% de AG livres com os componentes restantes de fosfolipídios microbianos, mais pequenas quantidades de triglicerídeos e glicolipídios derivados da dieta, que são hidrolisados por lipases intestinais e pancreáticas (DOREAU e FERLAY, 1994).

As secreções pancreáticas e biliares são adicionadas à digesta no duodeno e são responsáveis pela solubilização do AG (BAUCHART, 1993). A maior parte da absorção de AG ocorre no jejuno. Dessa forma, para medir com precisão a digestibilidade de AG individual, são necessários fluxos duodenais de AG para determinar a quantidade total de cada AG disponível para o ruminante (BOERMAN et al., 2015).

Os AG também podem ser BH no intestino grosso (PANTOJA et al., 1996), o que pode superestimar ou subestimar, respectivamente, a digestibilidade aparente dos AGI e AGS. Portanto, diferenças podem estar presentes nas estimativas de digestibilidade quando amostras de digesta são coletadas no íleo comparadas com fezes (BOERMAN et al., 2015).

Os primeiros estudos que avaliaram a digestibilidade de gordura relataram que a inclusão de lipídeos vegetais diminuiu a digestão das fibras e aumentou a digestibilidade da gordura (LUCAS E LOOSLI, 1944; SWIFT et al., 1947, 1948). No entanto, todos esses trabalhos foram comprometidos pela falta de reconhecimento de que grande parte

da gordura fecal ocorre como sabão de cálcio insolúvel, que não é avaliado pelos procedimentos clássicos de extração de éter e, portanto, superestima a digestibilidade dos AG, e isso continua sendo um problema atual (PALMQUIST E JENKINS, 2017).

Assim, é possível concluir que a digestão e metabolismo dos AG em ruminantes são complexos e dependentes principalmente da dieta basal e fontes de gordura utilizadas. A capacidade de entender a digestão e o metabolismo dos AG em ruminantes é fundamental para evitar perturbações ruminais, maximizar a produção e melhorar o perfil de AG da gordura do leite de vacas leiteiras.

2.3 Utilização de gordura suplementar em dietas para vacas em lactação

Uma revisão abrangente de 100 anos (1917-2017) sobre a utilização de gordura em dieta para vacas em lactação foi descrita por Palmquist e Jenkins (2017). De acordo com esses autores, ao longo dos anos a gordura deixou de ser apenas um contaminante em alguns suplementos de proteína para um valioso substituto de alta energia dos grãos de cereais, além de ser capaz de modificar o metabolismo celular que está sob investigação ativa no século XXI.

Diversos fatores positivos justificam a inclusão de gordura em dietas para vacas em lactação. Primeiramente, dependendo do estágio de lactação e do balanço energético, a inclusão de lipídios na dieta de vacas leiteiras aumenta a densidade energética das rações, e isso pode maximizar a produção de leite, a produção de gordura do leite e as reservas corporais, desde que a fonte de gordura utilizada não reduza o consumo de matéria seca (CMS) ou prejudique a digestibilidade dos nutrientes (BOERMAN et al., 2015).

Em segundo lugar, a suplementação lipídica pode ser utilizada como estratégia nutricional para aliviar os efeitos prejudiciais do estresse calórico em vacas leiteiras (MIN et al., 2019). Vacas criadas em regiões de clima quentes, especialmente aquelas de origem europeia de alta produção, muitas vezes tem o consumo de matéria seca (CMS) reduzido em função do estresse calórico, que resulta em balanço energético negativo, durante o qual a ingestão de energia não é capaz de atender à necessidade de lactação. Assim, a suplementação da dieta com gordura adicional além de melhorar o déficit energético, reduz a termogênese, pois a gordura gera menos incremento de calor do que carboidrato ou proteína dietética (COLLIER et al., 2019).

Finalmente, a gordura dietética pode ser utilizada como estratégia para modular metabolismo lipídico ruminal e aumentar as concentrações de ácidos graxos benéficos a saúde humana na gordura do leite de vacas em lactação (KLIEM et al., 2019).

Apesar disso, a suplementação lipídica também pode prejudicar a fermentação ruminal, diminuindo o consumo, a digestibilidade dos nutrientes e consequentemente a produção de vacas em lactação. Geralmente esses resultados são encontrados quando o nível total de extrato etéreo da dieta excede 7% da MS (NRC, 2001). No entanto, níveis mais baixos (EE <7%) também podem prejudicar o desempenho de vacas (PALMQUIST e JENKINS, 2017). Isso é explicado porque o efeito da gordura dietética sobre o desempenho de vacas depende de outros fatores, como a composição da dieta basal, quantidade e fonte de gordura utilizada (NRC, 2001). Suplementar dietas com fontes de gordura ricas em AGI em vez de AGS ou sais de cálcio tem um efeito mais negativo na fermentação ruminal (RABIE et al., 2012; NRC, 2001). O aumento do tamanho das partículas das gorduras é reconhecido como um possível mecanismo para diminuir os efeitos negativos do AGI (WELD e ARMENTANO, 2016). Assim é esperado que fontes de óleos vegetais na forma “livre” sejam mais prejudiciais que sementes de oleaginosas. Por fim, dietas com baixo teor de fibra fisicamente efetiva (FDNfe) e suplementadas com lipídios vegetais são mais propensas a perturbações ruminais (DEWANCKELE et al., 2020).

Além disso, dietas suplementadas com lipídios vegetais ou de origem marinha (principalmente óleos de peixe e algas) são conhecidas por induzir a DGL em vacas em lactação (BAUMAN e GRIINARI, 2003). Essa condição é vista de forma negativa para os produtores, uma vez que, dependendo do regime de pagamento local, podem existir vantagens econômicas para a produção de leite com um teor específico de gordura, ao passo que em vários países são impostos limites legais à quantidade mínima de gordura no leite (TORAL et al., 2015).

Várias hipóteses têm sido propostas para explicar a DGL induzida pela dieta em vacas leiteiras, sendo que a mais recente e mais aceita é a teoria da biohidrogenação (BH) (BAUMAN e GRIINARI, 2001). Para dietas ricas em amido e suplementadas com lipídios vegetais (ricos em AGI), prevalece a teoria da BH, que é atribuída aos efeitos antilipogênicos de determinados AGs *trans*, particularmente o *trans*-10, *cis*-12 CLA (BAUMAN e GRIINARI, 2003). No entanto, outros intermediários de BH apresentaram efeitos antilipogênicos, como *cis*-10, *trans*-12 CLA, *trans*-9, *cis*-11 CLA e *trans*-10 18:1 (SHINGFIELD e GRIINARI, 2007).

Para dietas que incluem suplementos marinhos (ex: óleo de peixe), foi proposta uma extensão da teoria BH, que inclui o papel das mudanças na disponibilidade de ácidos graxos de cadeia longa na glândula mamária que consistem essencialmente em um

aumento no total de *trans* 18:1 às custas de 18:0, o que aumentaria o ponto de fusão da gordura do leite e contribuiria para uma menor síntese de gordura do leite (GAMA et al., 2008). O papel dos intermediários de BH na DGL foi amplamente revisados por (DEWANCKELE et al., 2020).

Portanto, entender a influência da gordura suplementar na regulação da síntese de gordura do leite é essencial não apenas para melhorar a qualidade nutricional da gordura do leite para os consumidores, mas também para prevenir a DGL.

2.4 Propriedades bioativas dos ácidos graxos do leite de ruminantes: importância na promoção da saúde

A gordura do leite é uma boa fonte de energia, vitaminas e fornece atributos sensoriais e físicos únicos aos produtos lácteos (GOMÉS-CORTÉS et al., 2018). No que diz respeito à pecuária leiteira, o perfil de AG presente na gordura do leite também é visto como um fator importante na qualidade tecnológica do leite cru e pode contribuir significativamente para a produção de laticínios com maior valor agregado (HANUŠ et al., 2018).

Devido às particularidades do sistema digestivo e do metabolismo mamário dos ruminantes, a gordura do leite desses animais apresenta natureza química extremamente complexa, com mais de 400 tipos de AG, alguns não encontrados em outros alimentos. A maior parte (67%) da gordura do leite de ruminantes é constituída por AGS, baixos níveis (3%) de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), ácido linoleico conjugado (CLA) e um nível subsequente (4%) de ácidos graxos *trans* (FERLAY et al., 2008). Essas concentrações podem variar de acordo com a raça, estágio de lactação e, principalmente, com a dieta (JENSER et al., 2002).

Especialmente devido a essa grande quantidade de AGS, por várias décadas, o consumo de leite e produtos lácteos têm sido alvo de críticas por grande parte da comunidade médica, nutricionistas e órgãos de saúde pública. O principal motivo seria que o consumo de AGS supostamente aumentaria os casos de obesidade, diabetes e maiores riscos de doenças cardiovasculares (DCV) (GIVENS, 2017). Contudo, descobertas recentes indicaram que produtos lácteos têm um efeito neutro (GUO et al., 2017) ou até mesmo positivo na saúde cardiovascular (ALEXANDER et al., 2016) ao contrário das suposições anteriores. Atualmente é aceito que os efeitos da redução da ingestão de AGS dependem do que os substitui na dieta (NETTLETO et al., 2017).

Estudos mais recentes têm demonstrado que somente parte da gordura saturada presente no leite pode ser considerada hipercolesterolêmica. Além disso, os componentes

da matriz láctea (ex.: cálcio, peptídeos, e a membrana do glóbulo de gordura do leite) podem modificar as respostas dos lipídios no sangue. Por exemplo, os AGS considerados hipercolesterolêmicos (C12:0, C14:0 e C16:0) não apresentam impacto sobre DCV quando fornecidos na matriz láctea (THORNING et al., 2017). Da mesma forma, dietas com altos teores de carboidratos promovem a utilização inicial da gordura para geração de energia, levando ao armazenamento de AGS, enquanto uma dieta pobre em carboidratos promove oxidação do AGS e reduz seu armazenamento (RUIZ-NÚÑEZ, et al., 2016). No entanto, esta área de pesquisa continua sendo um assunto muito atraente para novas expansões de nosso conhecimento.

Apesar de toda polêmica envolvendo o consumo de leite e seus derivados ao redor do mundo, há um consenso científico crescente nas últimas décadas que aponta a gordura do leite de ruminantes como uma fonte natural quase exclusiva de certos AGs bioativos com benefícios a saúde humana. Por exemplo, a gordura do leite de ruminantes é quase a única fonte de ácido butírico (C4:0) e apresenta teores incomuns de ácidos graxos saturados de cadeia ímpar e ramificada (AGCIR), aos quais têm sido atribuídas propriedades benéficas à saúde por meio de mecanismos envolvendo modulação da microbiota intestinal e ação antiinflamatória (RAN-RESSLER et al., 2014). Da mesma forma, uma quantidade significativa de atenção tem sido focada nas concentrações de AGPI da família ômega-3 e ácido linoleico conjugado (CLA) presente na gordura do leite, que possivelmente estariam envolvidos na prevenção de câncer, obesidade, diabetes, DCV, dentre outras (BAZINET et al., 2014).

2.4.1 Ácidos graxos de cadeia curta

A gordura do leite de ruminantes é a principal fonte de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) na dieta humana, pois a maioria dos produtos alimentícios, incluindo a carne, apresentam AG de maior comprimento de cadeia (GÓMEZ-CORTÉS et al., 2018). Nos ruminantes, todos os AGCC são sintetizados na glândula mamária pela síntese *de novo* (SHINGFIELD et al., 2010). O papel dos AGCC na saúde humana foi bem documentado por Tan et al. (2014). Dessa forma, nosso foco aqui é discutir a importância do ácido butírico (C4:0), que é considerado o AGCC mais importante para saúde e de maior discussão na literatura.

O C4:0 não está presente nas gorduras vegetais e apenas em pequenas quantidades no leite humano. Em média, o C4:0 representa de 3 a 4% do total de AG presente na gordura do leite de ruminantes (HAGEMAN et al., 2019) e, além de ser uma fonte de energia primária, também exerce um papel essencial para saúde das células epiteliais do

intestino (HAMER et al., 2008). De acordo com Gómez-Cortés et al. (2018), o ácido butírico tem potencial para preservar as funções fisiológicas da mucosa do cólon, que é considerada a primeira linha de defesa contra patógenos e substâncias nocivas. Foi possível observar que o consumo de 4g/dia de butirato, durante 4 semanas, melhorou a sensibilidade periférica e a insulina em homens saudáveis magros, mas não em homens obesos.

Outros estudos também relataram que o C4:0 pode exercer efeitos nas células do cólon em diferentes estágios desenvolvimento do câncer (FUNG et al., 2012). Na quimioprevenção primária, o C4:0 reduz os processos inflamatórios através da modulação de genes envolvidos no estresse oxidativo e metabólico em células do cólon humano (SCHARLAU et al., 2009). Por outro lado, na quimioprevenção secundária, o butirato mostrou atividade anticâncer através da indução de apoptose (ZHANG et al., 2010).

Vários testes em animais também confirmaram que a suplementação de C4:0 na dieta pode induzir mudanças positivas no metabolismo de todo o corpo. Por exemplo, o fornecimento de C4:0 com uma dieta rica em gordura para roedores demonstrou reduzir o ganho de peso (LI et al., 2018; LU et al., 2016) e a adiposidade (LI et al., 2018; HENAGAN et al., 2015). Por fim, o fornecimento de C4:0 melhorou o metabolismo da glicose (DEN BESTEN et al., 2015; Lin et al., 2012; GÃO et al., 2009) e reduziu os lipídeos no sangue (LU et al., 2016).

Apesar dessas evidências promissoras, deve-se ressaltar que C4:0 certamente atua em conjunto com outros compostos da flora intestinal e fibra alimentar (GÓMEZ-CORTÉS et al., 2018).

2.4.2 Ácidos graxos de cadeia ímpar e ramificada (AGCIR)

Os AGCIR são os principais constituintes lipídicos estruturais das membranas bacteriana e estão presentes na gordura do leite de ruminantes como consequência do processo BH (FIEVEZ et al., 2012). Os AGCIR representam menos de 5% do total de AG presente na gordura do leite, sendo os isômeros pentadecanóico (15:0, *iso*-15 e *anteiso*-15:0), hexadecanóico (*iso*-16:0) e heptadecanoíco (17:0 *iso*-17:0 e *anteiso*-17:0) os mais abundantes. Todo processo de formação microbiana dos AGCIR foi descrito em detalhes por Vlaeminck et al. (2006). Embora a concentração de AGCIR no leite de ruminantes possa ser considerada baixa, sua presença é importante, pois funcionam como indicadores de fermentação ruminal (VLAEMINCK et al., 2006) e como indicadores da ingestão de gordura láctea em humanos (ALBANI et al., 2017).

Além disso, estudos recentes têm relatado que os AGCIR possuem efeitos biológicos e potenciais benefícios a saúde. Em animais de laboratório, foi relatado que os ácidos graxos de cadeia ramificada (AGCR) apresentaram propriedades antiinflamatórias em células (RAN-RESSLER et al., 2014), reduziram a incidência de enterocolite necrosante e alteraram a ecologia dos microrganismos gastrointestinais em ratos neonatal (RAN-RESSLER et al., 2011a). Ran-Ressler et al. (2008) demonstraram que os AGCR estão presentes no trato gastrointestinais de recém-nascidos saudáveis e normais, e que possivelmente esses AGs apoiariam a colonização de microrganismos no intestino.

Em particular, o *iso*-15:0 demonstrou potencial para inibir linfomas (CAI et al., 2013) e a proliferação de outros tipos de carcinoma, incluindo mama, pâncreas, fígado, bexiga e colorretal (LIN et al., 2012; VAHMANI et al., 2019). Por outro lado, alguns estudos têm relatado que o AGCR pode estar associado a regulação do armazenamento de gordura corporal. Liu et al. (2017) demonstraram que os isômeros *iso*-15:0 e *iso*-18:0 têm potencial para reduzir o conteúdo de triglicerídeos (TG) intracelular em modelo de fígado gorduroso *in vitro*. Em apoio a esses achados, estudos recentes têm demonstrado que o conteúdo de AGs *iso*-ramificada no soro sanguíneo de humanos pode estar inversamente correlacionado com a presença de TG (PAKIET et al., 2020).

Com relação aos ácidos graxos de cadeia ímpar (AGCI), particularmente o pentadecanóico (C15:0) e heptadecanoíco (C17:0) podem ser formados pela síntese bacteriana no rúmen e também pela síntese da glândula mamária em ruminantes (VLAEMINCK et al. (2006). Por outro lado, os humanos não são capazes de sintetizar o C15:0 e C17:0, de modo que esses AGs são considerados marcadores importantes no consumo de gordura láctea (ALBANI et al., 2017).

A concentração de C15:0 e C17:0 no plasma foram inversamente associados a doenças cardiovasculares (JENKINS et al., 2015) e a incidência de diabetes tipo 2 (IMAMURA et al., 2018). Recentemente, Venn-Watson et al. (2020) detalharam o papel direto do C15:0 na atenuação do estado pró-inflamatório, anemia, dislipidemia e fibrose em linhagens de células humanas. Contudo, os mecanismos de atuação dos AGCI disponíveis na literatura ainda são limitados e requerem estudos adicionais.

2.4.3 Ácidos graxos *trans*

Ao longo dos últimos 20 anos, a ingestão total de gordura *trans* diminuiu de forma considerável. Em média, o consumo de gordura *trans* está abaixo de 1% em todo o mundo (WANDERS et al., 2017). A partir das afirmações de que o consumo de ácidos graxos

trans (AGT) aumentaria o risco de DCV em humanos, a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2010) recomendou que os AGTs devem contribuir com no máximo 1% do consumo total de energia diária. Contudo, estudos atuais demonstraram que o AGT industrial (AGTi) e natural (AGTr) apresentam efeitos distintos sobre os fatores de risco associado a DCV.

Muitas evidências científicas relataram que o consumo de AGTi está associado positivamente com fatores de risco de DCV, ao passo que o consumo de AGTr não teria esse efeito prejudicial (SOUZA et al., 2015). Da mesma forma, Kuhnt et al. (2016) demonstraram que nenhum efeito fisiológico adverso poderia ser atribuído ao AGTr, mas apenas a ingestão extremamente alta de AGTr poderia provocar alterações nos lipídeos do sangue.

Para melhor entendimento dos AGTi e AGTr e seus efeitos a saúde é necessário compreender o processo de formação desses isômeros. Enquanto o AGTi é formado por gorduras vegetais parcialmente hidrogenadas (FERLAY et al., 2017) ou totalmente refinados (ALDAI et al., 2013), o AGTr é naturalmente formado por microrganismos ruminais, através do processo de BH dos AGPI presentes na dieta de ruminantes (SHINGFIELD et al., 2013). Pelo processo de hidrogenação industrial, os principais isômeros resultantes são os *trans*-9 C18:1 (ácido elaídico) e *trans*-10 C18:1, enquanto o principal AGT resultante do processo de BH no rúmen é o *trans*-11 18:1 (ácido vacênico, AV) (JENSEN, 2000). Em ruminantes alimentados com dietas convencionais, a porcentagem de AV na gordura do leite pode variar entre 40-50% do total de C18:1 *trans*, enquanto o ácido elaídico e *trans*-10 C18:1 estão presente em apenas 5 e 10%, respectivamente, do total de *trans* C18:1 (SHINGFIELD et al., 2013). Dessa forma, ao consumir leite de ruminantes, a ingestão de ácido elaídico e *trans*-10 C18:1 é muito baixa, quando comparado ao consumo de produtos industrializados, e isto tem sido o principal argumento dos pesquisadores para explicar o baixo impacto negativo do AGTr na saúde humana.

Ao avaliar o papel dos isômeros *trans* C18:1 na saúde, Vahmani et al. (2015) demonstraram que os isômeros *trans* (9,11,13) C18:1 são metabolizados de formas diferentes. Esses autores utilizaram adipócitos de camundongos e verificaram que o AV e *trans*-13 C18:1 apresentaram maior atividade delta-9 dessaturase. Por outro lado, apenas o ácido elaídico regulou positivamente vários genes lipogênicos. Da mesma forma, Vahmani et al. (2017) utilizaram células de fígado cultivadas e demonstraram que o ácido elaídico e *trans*-10 C18:1 aumentaram o teor de TG e colesterol em comparação

com os isômeros *trans* (11,14,15) C18:1. Portanto, os isômeros *trans* C18:1 individuais apresentam propriedades específicas e podem explicar indiretamente e, de forma mais clara, os efeitos adversos entre o consumo de AGTi e AGTr.

Desde 2009, estudos já demonstravam que o AV não estaria associado a DCV, resistência à insulina ou inflamação (FIELD et al., 2009). Anadón et al. (2010) demonstraram que o consumo de gordura láctea enriquecida com AV diminuiu de forma significativa o TG no plasma em modelos de ratos, sem nenhum efeito prejudicial a outros metabólicos. Outro estudo demonstrou que o AV melhorou a secreção de insulina em roedores com diabetes tipo 2 (WANG et al., 2016).

Vale ressaltar que o AV é o principal precursor do ácido rumênico (RA, *cis*-9, *trans*-11 C18:2), considerado um dos principais compostos bioativos presente na gordura do leite de ruminantes (discutido abaixo). A síntese endógena de AR pode ocorrer na glândula mamária de ruminantes e nos tecidos humanos através da delta-9 desaturase (VAN WIJLEN e COLOMBANI, 2010).

Independentemente de sua conversão em AR, vários estudos têm evidenciado que o AV apresenta propriedades bioativas individuais. Lim et al. (2014) observaram que o AV tem um efeito anticancerígeno direto nas células mamárias de humanos. Por outro lado, Herrera-Meza et al. (2013) demonstram que, mesmo utilizando um inibidor de conversão de AV em AR, foi possível observar que a gordura do leite enriquecida com AV tem efeitos benéficos sobre indicadores de risco de DCV em ratos hipertensos. Por fim, Jaudszus et al. (2012) demonstraram que o AV altera favoravelmente os marcadores de inflamação em células humanas de maneira semelhante ao AR.

2.4.4. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6

Os principais ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 (AGPI, n-3) incluem o alfa linolênico (ALA, C18:3 n-3), eicosapentanoico (EPA, C20:5 n-3) e o docosahexaenóico (DHA, C22:6 n-3). O ALA é o mais abundante na gordura do leite (SWANSON et al., 2012), e juntamente com ácido linoleico (LA, C18:2 n-6) são considerados ácidos graxos essenciais, pois os humanos não são capazes de sintetizá-los (KAUR et al., 2014). No corpo humano, ALA e LA são transformados em ácido araquidônico (ARA, C20:4 n-6), EPA e DHA, que demonstraram ter um papel fundamental na regulação da homeostase corporal (BAZINET et al., 2014).

Normalmente, considera-se que todos os AGPI apresentam efeitos benéficos à saúde humana. Contudo, as funções dos AGPI ômega-3 e ômega-6 sobre o metabolismo corporal são opostas. O consumo de dietas enriquecidas com AGPI ômega-6 podem

provocar um estado pró-inflamatório, pró-trombótico e pró-agregador, com aumento da viscosidade sanguínea e vasoconstrição, que são fatores associados ao desenvolvimento de DCV (DENNIS et al., 2015). Da mesma forma, a inflamação persistente, provocada pelo alto consumo de AGPI ômega-6, tem sido associada ao maior risco de câncer e metástases (ADKINS et al., 2010).

Por outro lado, dietas enriquecidas com AGPI ômega-3 têm demonstrado alterar as funções de biomarcadores vasculares e cancerígenos, resultando em menor risco de câncer e DVC (SWANSON et al., 2012). Além disso, foi relatado que o AGPI ômega-3 fornece proteção contra doenças crônicas e metabólicas, incluindo diabetes, obesidade, osteoporose, degeneração neurológica e fraturas ósseas (KANG et al., 2012). Por fim, o AGPI ômega-3 são essenciais para o desenvolvimento e função do cérebro e apoiam o envelhecimento saudável (JANSSEN et al., 2014).

Dentro deste contexto, é desejável aumentar o consumo de AGPI ômega-3, bem como diminuir a ingestão de AGPI ômega-6. Contudo, apesar do AGPI ômega-3 estarem presentes na gordura do leite de ruminantes, infelizmente suas concentrações são baixas (SHINGFIELD et al., 2013), em função principalmente do processo de BH ruminal dos AGPI presentes na dieta (CHILLIARD et al., 2007). Dessa forma, modificar a composição do perfil de ácidos graxos no leite (ex.: aumentar ALA, EPA, DHA) é um desafio enfrentado por pesquisadores e nutricionistas. De modo geral, evidências sugerem que vacas alimentadas a pasto ou suplementada com fontes de gorduras vegetais ou lipídios marinhos podem aumentar a concentração de AGPI ômega-3 na gordura do leite (DAVIS et al., 2020; KLIEM et al., 2019; TORAL et al., 2018).

2.4.5 Ácido linoleico conjugado (CLA)

A fonte de CLA na dieta humana é quase exclusivamente através do consumo de leite, laticínios e carne de animais ruminantes. Dentre todos os isômeros conhecidos, o *cis-9 trans-11* CLA ou ácido rumênico é considerado o mais naturalmente abundante presente na gordura do leite, sendo responsável por até 90% do CLA total (CHILLIARD et al., 2007).

Devido à dificuldade e alto custo para isolar cada isômero de CLA único, desde a década de 90, quase todos os estudos de CLA em animais e humanos foram realizados usando misturas preparadas sinteticamente de *cis-9 trans-11* CLA e *trans-10 cis-2* CLA (DE LA FUENTE et al., 2006). De forma resumida, a mistura dos isômeros para preparação química do CLA sintético (também chamado de CLA comercial ou misto) ocorre através do processo de isomerização alcalina de fontes de óleos ricos em ácidos

linoleico (ex.: girassol, cártamo, milho, soja), com proporções de *cis*-9, *trans*-11 CLA e *trans*-10, *cis*-12 CLA semelhantes e com quantidades variáveis de outros isômeros geométricos e posicionais que foram testados em humanos (SÉBÉDIO et al., 1999).

2.4.5.1 Efeitos do CLA sobre o câncer em animais e humanos

Um dos primeiros benefícios do CLA foi seus efeitos anticancerígeno, descoberto por Michael Pariza na década de 80. No início das pesquisas, verificou-se que camundongos suplementados com CLA sintético desenvolveram apenas metade do número de papilomas e menor incidência de formação de tumor, quando comparado com camundongos de controle (HA, GRIMM e PARIZA, 1987). Estudos posteriores demonstraram que o CLA apresenta potenciais benéficos sobre diferentes modelos de carcinoma em animais, incluindo cólon (SHIRAISHI et al., 2010) cólon e pulmonar (SOEL et al., 2007), mamário (LAVILLONNEIERE et al., 2003), seios (TAO et al., 2012), estômago (HA et al., 1990), próstata (JUNG et al., 2011), pâncreas (KILIAN et al., 2003) e fígado (YAMASAKI et al., 2001).

O CLA pode inibir o câncer na fase de inicialização, promoção e progressão (AZAIN et al., 2003). Os efeitos inibitórios do CLA em diferentes desenvolvimentos de câncer e modelos de animais foram detalhados recentemente por Dachev et al. (2021). A ação inicial anticâncer do CLA parece estar associado aos danos causados à síntese de DNA que leva a mutagênese e indução a apoptose em células do câncer (LEE et al., 2003). Outros estudos têm relatado que o efeito anticâncer do CLA é devido a sua atividade antioxidante que inibe o desenvolvimento de tumores ou promove mecanismos de defesa contra os ataques dos radicais livres na membrana celular (SHULTZ et al., 1992). Contudo, ainda não foi relatado de forma conclusiva se o CLA funciona como um antioxidante (DACHEV et al., 2021). A atividade anti-promocional do CLA contra o câncer foi explicado pelas alterações no metabolismo de eicosanóides em animais (EL ROZ et al., 2013).

Em comparação com os estudos em animais, poucas evidências comprovaram que o consumo de CLA reduz a incidência ou progressão de câncer em humanos. Alguns estudos relataram que o consumo de laticínios com alto teor de gordura e CLA teve uma correlação negativa sobre o risco de câncer de mama ou cólon (KNEKT et al., 1996), e diminui o fator de necrose tumoral em pacientes com câncer colorretal durante 6 semanas (MOHAMMADZADEH et al., 2013).

Ao realizar um ensaio clínico em mulheres com câncer de mama (estágio I-III), MCGowan et al. (2013) verificaram que a suplementação de 7,5 g/dia de CLA pelo menos

10 dias antes da cirurgia foi associada a níveis reduzidos de tecido tumoral em pacientes com escores de câncer mais altos (II), mas não em pacientes com escores de câncer mais baixos (I). Além disso, o CLA diminuiu o Ki-67 (marcador de proliferação tumoral), indicativo de uma redução na proliferação tumoral. Por fim, os autores concluíram que o consumo de 7,5 g/dia de CLA foi bem tolerado e seguro por até 20 dias, e que o CLA pode ser usado em conjunto com as opções atuais para o tratamento do câncer de mama. Contudo, outros estudos não encontraram qualquer correlação entre o consumo de CLA e a incidência de câncer de mama (MCCANN et al., 2004; CHAJÈS et al., 2003).

2.4.5.2 Efeitos do CLA sobre o peso e composição corporal em animais e humanos

Estudos iniciais mostraram que camundongos alimentados com CLA tiveram perda de gordura (57-60%), assim como, apresentaram um corpo mais magro (aumento de 5-14% da massa corporal magra) ao longo de 30 dias (PARK et al., 1997). Além disso, verificou-se que os níveis de triglicerídeos e ácidos graxos não esterificados foram reduzidos no tecido adiposo branco em ratos, de uma maneira dependente da dose, após três semanas de alimentação com CLA (YAMASAKI et al., 1999). Nesta mesma época, as pesquisas já haviam demonstrado que o isômero *trans*-10 *cis*-12 CLA era o responsável pela redução da adiposidade (PARK et al., 1999).

Posteriormente, os efeitos que o CLA tem sobre a adiposidade foram confirmados em vários modelos de camundongos (DEN HARTIGH et al., 2017) ratos (AZAIN et al., 2000), hamsters (NAVARRO et al., 2003) e suínos (CORL et al., 2008).

Um estudo realizado na Noruega em homens e mulheres saudáveis mostrou que os participantes que foram suplementados com CLA diminuíram a gordura corporal (THOM et al., 2001). Da mesma forma, a suplementação dietética de CLA foi suficiente para ajudar 60 indivíduos obesos a reduzir sua gordura corporal em um ensaio clínico (BLANKSON et al., 2000). Outro estudo com 53 crianças (6-10 anos de idade), que estavam com sobrepeso ou obesas, apresentaram gordura corporal mais baixa após receberem 3 g/dia de CLA, porém, sem melhorar os níveis de lipídios ou glicose no plasma (RACINE et al., 2010). Por outro lado, alguns estudos não encontraram efeitos da suplementação de CLA sobre o peso corporal e adiposidade (RIBEIRO et al., 2016).

Para explicar os efeitos do CLA sobre as alterações no peso e composição corporal em humanos, alguns mecanismos têm sido relatados na literatura, mas com algumas divergências. Vários autores afirmaram que o consumo de CLA estaria relacionado com aumento do gasto de energia (NAGAO et al., 2003), e isto foi confirmado recentemente por Rossignoli et al. (2018). A principal hipótese apresentada por esses autores é que,

enquanto o gasto de energia é aumentado, a massa corporal magra é mantida em resposta a suplementação de CLA (DEN HARTIGH et al., 2017). Por fim, recentemente foi relatado que a suplementação de CLA provoca alterações na composição microbiana intestinal, e isto pode contribuir para a perda de peso (DEN HARTIGH et al., 2018).

2.4.5.3 Efeitos específicos do isômero *cis-9 trans-11* CLA e *trans-10, cis-12* CLA

Algumas pesquisas têm demonstrado que a maioria das propriedades benéficas do CLA devem ser atribuídas à ação separada de ambos os isômeros (CHURRUCA et al., 2009) e que os efeitos biológicos e funções celulares poderiam variar em função do tipo de célula ou tecido, espécies de mamíferos ou concentração de CLA (GÓMEZ-CORTÉS et al., 2018). Portanto, um único isômero não é responsável por todas as atividades biológicas e, dessa forma, o principal desafio dos pesquisados atuais tem sido detalhar os efeitos das funções de isômeros individuais do CLA na saúde humana.

As atividades biológicas dos dois principais isômeros (*cis-9, trans-11* CLA e *trans-10, cis-12* CLA) presentes na gordura do leite de ruminantes estão bem documentados (PARIZA et al., 2001). Ambos os isômeros (*cis-9, trans-11* CLA e *trans-10, cis-12* CLA) foram eficazes para inibir a carcinogênese em ratos, contudo, os mecanismos na modulação da apoptose, metabolismo lipídico e regulação de oncogênese foram diferentes para cada isômero (KELLEY et al., 2007).

O isômero *trans-10 cis-12* CLA tem mostrado ser capaz de reduzir a deposição de gordura e aumentar a massa magra corporal em modelos animais (PARK et al., 1999; PARIZA et al., 2000). Recentemente, Hatigh et al. (2018) observaram que a suplementação com *trans-10, cis-12* CLA reduziu o peso de ratos obesos de forma semelhante aos animais que foram submetidos a restrição alimentar, porém através de alterações metabólicas distintas.

Por outro lado, o *cis-9 trans-11* CLA tem sido associado a efeitos anabólicos e anti-inflamatórios (FERLAY et al., 2017). Além disso, Zeng et al. (2020) demonstraram que o fornecimento de *cis-9 trans-11* CLA em uma dieta enriquecida com manteiga reduz a progressão de câncer de mama *in vivo*. Segundo esses autores, ficou claro o efeito preventivo do *cis-9 trans-11* CLA contra o câncer de mama, pois houve uma redução no peso e no volume do tumor, assim como, uma redução de 50% na incidência do tumor.

Assim, considerando as evidências científicas atuais, a imagem negativa da gordura do leite está se enfraquecendo, e o impacto da gordura láctea na saúde humana tem sido pensado de uma forma muito mais positiva do que nos períodos anteriores. Há um consenso científico crescente que aponta a gordura láctea como uma fonte natural de AG

bioativos. Em geral, os efeitos do CLA em humanos têm sido muito menores do que os observados em animais. Uma possível explicação para isso são as concentrações mais altas de CLA usadas em estudos com animais em comparação com estudos em humanos. A esse respeito, a dose efetiva de CLA em animais e humanos ainda não está clara e, dessa forma, maiores pesquisas precisam estabelecer qual quantidade de produtos lácteos é necessária para alcançar efeitos positivos para a saúde.

3. REFERÊNCIAS

ABDELQADER, M.M. et al. Evaluation of corn germ from ethanol production as an alternative fat source in dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.1023-1037, 2009a. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1207>

ABDELQADER, M.M. et al. Isolipidic additions of fat from corn germ, corn distillers grains, or corn oil in dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.5523-5533, 2009b. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1867>

ADKINS, D. et al. Mechanisms underlying the cardioprotective effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.21, p.781-792, 2010. doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.12.004

ALBANI, V. et al. Within-person reproducibility and sensitivity to dietary change of C15:0 and C17:0 levels in dried blood spots: Data from the European Food4Me Study. **Molecular Nutrition Food Research**, v.61, p.1700142, 2017. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700142>

ALDAI, N. What are the trans fatty acids issues in foods after discontinuation of industrially produced trans fats? Ruminant products, vegetable oils, and synthetic supplements. **European Journal Lipid Science and Technology**, v.115, p.1378-1401, 2013. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201300072>

ALEXANDER, L.C. et al. Dairy consumption and CVD: A systematic review and meta-analysis. **British Journal of Nutrition**, v.115, p. 737-750, 2016. <https://doi.org/10.1017/S0007114515005000>

ALBUQUERQUE, C.S. et al. Chemical Composition and Metabolizable Energy Values of Corn Germ Meal Obtained by Wet Milling for Layers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.16, n.1, p.107-112, 2014.

ANADÓN, A. et al. Acute oral safety study of dairy fat rich in *trans*-10 C18:1 versus vaccenic plus conjugated linoleic acid in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 591-598, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.037>

ALMEIDA, E.M. et al. Respostas fisiológicas em vacas lactantes suplementadas com germen integral de milho. *Revista Agrotecnologia*, v.5, n.1, p.105-114, 2014.

ALVES, S.P., BESSA, R.J.B. The *trans*-10, *cis*-15 18:2: a Missing Intermediate of *trans*-10 Shifted Rumen Biohydrogenation Pathway?. **Lipids**, v.49, p. 527-54, 2014. <https://doi.org/10.1007/s11745-014-3897-4>

AZAIN, M.J. Conjugated linoleic acid and its effects on animal products and health in single-stomached animals. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.62, p.319-328, 2003. <https://doi.org/10.1079/PNS2003240>

BAZINET, R., LAYÉ, S. et al. Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in brain function and disease. **Nature Reviews Neuroscience**, v.15, p.771-785, 2014. <https://doi.org/10.1038/nrn3820>

BAUCHART, D. Lipid absorption and transport in ruminants. **Journal Dairy Science**, v.76, p. 3864-3881, 1993. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77728-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77728-0)

BAUMAN, D.E., GRIINARI, J.M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Nutritional Regulation of Milk Fat Synthesis**, v.23, p. 203-227, 2003. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.23.011702.073408>

BAUMAN, D.E., GRIINARI, J.M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: Low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v.70, p.15-29, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00195-6](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00195-6)

BAUMGARD, L.H. et al. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. **Am. J. Physiol**, v.278, p. R179-R184, 2000.

BESSA, R.J.B. et al. Effect of lipid supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs fed dehydrated lucerne or concentrate. **Livestock Production Science**, v. 96, p.185-194, 2005. [doi:10.1016/j.livprodsci.2005.01.017](https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2005.01.017)

BLANKSON, H. et al. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. **The Journal of Nutrition**, v.130, p.2943-2948, 2000. <https://doi.org/10.1093/jn/130.12.2943>

BOECKAERT, C. et al. Changes in rumen biohydrogenation intermediates and ciliate protozoa diversity after algae supplementation to dairy cattle. **Eur. J. Lipid Sci. Technol**, v.109 p. 767-777, 2007. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700052>

CAI, Q. et al. 13- methyltetradecanoic acid exhibits antitumor activity on T-cell lymphomas in vitro and in vivo by down-regulating p-AKT and activating caspase-3. **PLoS One**, v.8, Article e65308, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065308>

CALDERANO, A.A. et al. Composição química e energética de alimentos de origem vegetal determinada em aves de diferentes idades. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.2, p.320-326, 2010.

CASTRO, K.J. et al. Respostas comportamentais de novilhas leiteiras alimentadas com dietas à base de subprodutos agroindustriais. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 2, p. 306 -314, 2009.

CHAJES, V. et al. Conjugated linoleic acid content in breast adipose tissue of breast cancer patients and the risk of metastasis. **Nutrition and Cancer**, v.45, p.17-23, 2003. https://doi.org/10.1207/S15327914NC4501_2

CHILLIARD, Y. et al. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. **European Journal Lipid Science Technology**, v.109, p.828-855, 2007. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700080>

CHURRUCA, I. et al. Conjugated linoleic acid isomers: Differences in metabolism and biological effects. **BioFactors**, v.35, p.105-111, 2009. <https://doi.org/10.1002/biof.13>

COLLIER, R.J., BAUMGARD, L.H., ZIMBELMAN, R.B. Heat stress: physiology of acclimation and adaptation. **Animal Frontiers**, v.9, p.12-19, 2019. <https://doi.org/10.1093/af/vfy031>

CONTE, C. et al. A canonical discriminant analysis to study the association between milk fatty acids of ruminal origin and milk fat depression in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.101, p. 6497-6510, 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13941>

DACHEV, M. et al. The Effects of Conjugated Linoleic Acids on Cancer. **Processos**, v.9, p. 454, 2021. <https://doi.org/10.3390/pr9030454>

DAVIS, H. et al. Evidence That Forage-Fed Cows Can Enhance Milk Quality. **Sustainability**, v.12, p.3688, 2020. <https://doi.org/10.3390/su12093688>

DE LA FUENTE, M.A. et al. Chromatographic techniques to determine conjugated linoleic acid. **Trends in Analytical Chemistry**, v.25, p.917-926, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2006.04.012>

DEN BESTEN, G. et al. Short-chain fatty acids protect against high-fat diet-induced obesity via a PPAR γ -dependent switch from lipogenesis to fat oxidation. **Diabetes**, v.64, p.2398-2408, 2015. <https://doi.org/10.2337/db14-1213>

DEN HARTIGH L.J. Conjugated Linoleic Acid Effects on Cancer, Obesity, and Atherosclerosis: A Review of Pre-Clinical and Human Trials with Current Perspectives. **Nutrients**, v.11, n.2, p.370, 2019 <https://doi:10.3390/nu11020370>. PMID:30754681; PMCID: PMC6413010.

DEN HARTIGH, L.J. et al. Metabolically distinct weight loss by 10,12 CLA and caloric restriction highlight the importance of subcutaneous white adipose tissue for glucose homeostasis in mice. **PLoS ONE**, v.12, e0172912, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172912>

DENNIS, E.A. et al. Eicosanoid storm in infection and inflammation. **Nature Reviews Neuroscience**, v.15, p.511-523, 2015. <https://doi.org/10.1038/nri3859>

DEWANCKELE, L. et al. Invited review: Role of rumen biohydrogenation intermediates and rumen microbes in diet-induced milk fat depression: An update. **Journal Dairy Science**, v.103, p.7655-7681, 2020. <https://doi:10.3168/jds.2019-17662>

EL ROZ, A. et al. The anti-proliferative and pro-apoptotic effects of the trans9, trans11 conjugated linoleic acid isomer on MCF-7 breast cancer cells are associated with LXR activation. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.88, p.265-272, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2012.12.006>

FERREIRA, M.A. et al. **Utilização da Palma Forrageira na Alimentação de Bovinos Leiteiros**. In: Mércia Virginia Ferreira dos Santos; Francisco Fernando Ramos de Carvalho; Marcelo de Andrade Ferreira. (Org.). Palma forrageira: potencial e perspectivas. 1ed.Recife: Suprema Grafica, 2020, v. 1, p. 255-296.

FERLAY, A. Production of trans and conjugated fatty acids in dairy ruminants and their putative effects on human health: A review. **Biochimie**, v.141, p. 107-120, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2017.08.006>

FERLAY, A. et al. Tanker milk variability in fatty acids according to farm feeding and husbandry practices in a French semi-mountain area. **Dairy Science Technology**, v.88, p.193-215, 2008. <https://doi.org/10.1051/dst:2007013>

FERLAY, A., DOREAU, M. Digestion and utilization of fatty-acids by ruminants. **Animal Feed Science Technology**, v.45, p. 379-396, 1994. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90039-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90039-6)

FIELD, C.J. et al. Human health benefits of vaccenic acid Applied. **Physiology Nutrition and Metabolism**, v.34, p.979-991, 2009. <https://doi:10.1139/H09-079>

FIEVEZ, V. et al. Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function-An update. **Animal Feed Science and Technology**, v.172, p. 51-65, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.008>

FOUGÈRE, H., BERNARD, L. Effect of diets supplemented with starch and corn oil, marine algae, or hydrogenated palm oil on mammary lipogenic gene expression in cows and goats: A comparative study. **Journal of Dairy Science**, v.102, p.768-779, 2019. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15288>

FOUGÈRE, H., DELAVAUD, C., BERNARD, L. Diets supplemented with starch and corn oil, marine algae, or hydrogenated palm oil differentially modulate milk fat secretion and composition in cows and goats: A comparative study. **Journal of Dairy Science**, v.101, p.8429- 445, 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14483>

FUNG, K.Y.C. et al. A review of the potential mechanisms for the lowering of colorectal oncogenesis by butyrate. **British Journal of Nutrition**, v.108, p.820-831, 2012. <https://doi.10.1017/S0007114512001948>

FUKE, G., NORBERG, J.L. Systematic evaluation on the effectiveness of conjugated linoleic acid in human health. **Critical Rev. Food Sci. Nutr.** v.57, p.1-7, 2017. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.716800>

GALEANO, V.J.L et al. Productive responses of dairy goats fed on diets containing elephant grass (*Pennisetum purpureum*) associated or not with cactus (*Opuntia stricta*) cladodes, and extra-fat whole corn germ as a substitute for corn. **Small Ruminant Research**, v.207, 106609, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106609>

GAMA M.A.S. et al. Partially replacing sorghum silage with cactus (*Opuntia stricta*) cladodes in a soybean oil-supplemented diet markedly increases trans-11 18:1, cis-9, trans-11 CLA and 18:2 n-6 contents in cow milk. **J. Anim. Phys. Anim. Nutr.** v.105, p. 232-246, 2020. <https://doi.org/10.1111/jpn.13466>

GAMA, M.A.S. Diet-induced milk fat depression: Association with changes in milk fatty acid composition and fluidity of milk fat. **Livestock Science**, v.115, p.319-331, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.08.006>

GAO, Z. et al. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. **Diabetes**, v.58, p.1509-1517, 2009. <https://doi.org/10.2337/db08-1637>

GIVENS, D. Saturated fats, dairy foods and health: A curious paradox? **Nutrition Bulletin**, v.42, p.274-282, 2017. <https://doi.org/10.1111/nbu.12283>

GLASSER, F., FERLAY, A., CHILLIARD, Y. Oilseed supplements and fatty acid composition of cow milk: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.4687-4670, 2008. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-0987>

GRINARI, J.M., BAUMAN, D.E. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: Yurawecz MP, Mossoba MM, Kramer JKG, Pariza MW, Nelson GJ (eds) *Advances in conjugated linoleic acid research*, v.1. AOCS Press, Champaign, 1999. pp 180–200

GÓMEZ-CORTÉS, P. et al. Milk fatty acids and potential health benefits: An updated vision. **Trends in Food Science & Technology**, v.81, p.1-9, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.014>.

GUO J. et al. Milk and dairy consumption and risk of cardiovascular diseases and all-cause mortality: dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. **European Journal of Epidemiology**, v.32, p.269-87, 2017. doi.org/10.1007/s10654-017-0243-1

HA, Y.L. et al. Inhibition of benzo pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. **Cancer Research**, v.50, p.1097-1101, 1990. PMID: 2297758

HA, Y.L., GRIMM, N.K., PARIZA, M.W. Anticarcinogens from fried ground beef: Heat-altered derivatives of linoleic acid. **Carcinogenesis**, v.8, p.1881-1887, 1987. <https://doi.org/10.1093/carcin/8.12.1881>

HAMER, H.M. et al. Review article: The role of butyrate on colonic function. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v.27, p.104-119, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03562.x>

HANUŠ, O. et al. Role of Fatty Acids in Milk Fat and the Influence of Selected Factors on Their Variability-A Review. **Molecules**, v. 23, n.7, p. 1636, 2018. <https://doi.org/10.3390/molecules23071636>

HARFOOT, C.G., HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen P.N. Hobson, C.S. Stewart (Eds.), *The Rumen Microbial Ecosystem*, Springer, Dordrecht, 1997. pp. 382-426. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1453-7_9

HENAGAN, T.M. et al. Sodium butyrate epigenetically modulates high-fat diet-induced skeletal muscle mitochondrial adaptation, obesity and insulin resistance through nucleosome positioning. **British Journal Pharmacology**, v.172, p.2782-2798, 2015. <https://doi.org/10.1111/bph.13058>

HERRERA-MEZA, M.S. et al. Dietary anhydrous milk fat naturally enriched with conjugated linoleic acid and vaccenic acid modify cardiovascular risk biomarkers in spontaneously hypertensive rats. **International Journal of Food Sciences & Nutrition**, v. 64, p. 575-586, 2013. <https://doi.org/10.3109/09637486.2013.763908>

IMAMURA, F. et al. Fatty acid biomarkers of dairy fat consumption and incidence of type 2 diabetes: A pooled analysis of prospective cohort studies. **PLoS Medicine**, v.15, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002670>

INÁCIO, J.G. et al. Nutritional and performance viability of cactus *Opuntia*-based diets added to concentrate levels for Girolando lactating dairy cows. **Asian-Australasian Journal Animal Science**, v.33, n.1, p. 35-43, 2020. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0916>

JANSSEN, C.I.F. et al. Long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) from genesis to senescence: The influence of LCPUFA on neural development, aging, and neurodegeneration. **Progress in Lipid Research**, v.53, p.1-17, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2013.10.002>

JAUDSZUS, A. et al. Vaccenic acid-mediated reduction in cytokine production is independent of c9, t11-CLA in human peripheral blood mononuclear cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. **Molecular and Cell Biology of Lipids**, v.1821, p.1316-1322, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2012.06.010>

JENKINS, B. et al. A review of odd-chain fatty acid metabolism and the role of pentadecanoic Acid (C15:0) and heptadecanoic Acid (C17:0) in health and disease. **Molecules**, v.20, p.2425-2444, 2015. <https://doi.org/10.3390/molecules20022425>

JENKINS, T.C. et al. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal Animal Science**, v.86, p. 397-412, 2008. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0588>

JENKINS, T.C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**. v.76, p.3851-3863, 1993. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77727-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77727-9)

JENSEN, R.G. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000 **Journal of Dairy Science**, v.85, p.295-350, 2002. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74079-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74079-4)

JUNG, M.Y. et al. Selectively Hydrogenated Soybean Oil Exerts Strong Anti-Prostate Cancer Activities. **Lipids**, v.46, p.287-295, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11745-010-3495-z>

KANG, J.X. et al. The role of the tissue omega-6/omega-3 fatty acid ratio in regulating tumor angiogenesis. **Cancer and Metastasis Reviews**, v.32, p.201-210, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10555-012-9401-9>

KAUR N. et al. Chugh V., Gupta A.K. Essential fatty acids as functional components of foods- a review. **Journal of Food Science and Technology**, v.51, p.2289-2303, 2014. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0677-0>

KELLEY, N.S. et al. Hubbard, N.E., Erickson, K.L. Conjugated linoleic acid isomers and câncer. **Journal of Nutrition**, v.137, p.2599-2607, 2007. <https://doi.org/10.1093/jn/137.12.2599>

KNEKT, P. et al. Intake of dairy products and the risk of breast cancer. **British Journal of Cancer**, v.73, p.687-691, 1996. doi.org/10.1038/bjc.1996.119

KEWELOH, H., HEIPIEPER, H.J. Trans unsaturated fatty acids in bacteria. **Lipids**, v.31 pp. p.129-137, 1996. <https://doi.org/10.1007/BF02522611>

- KILIAN, M. et al. Influence of conjugated vs. conventional linoleic acid on liver metastasis and hepatic lipidperoxidation in BOP-induced pancreatic cancer in Syrian hamster. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.67, p.223-228, 2002. <https://doi.org/10.1054/plef.2002.0422>
- KLIEM, K.E. et al. Differential effects of oilseed supplements on methane production and milk fatty acid concentrations in dairy cows. **Animal**, v.13, p.309-317, 2019. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001398>
- KUHNT, K. et al. Evaluation of the impact of ruminant trans fatty acids on human health: Important aspects to consider. **Critical Reviews of Food Science and Nutrition**, v.56, p.1964-1980, 2016. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.808605>
- LAVILLONNIÈRE, F. et al. Dietary purified *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid isomer has anticarcinogenic properties in chemically induced mammary tumors in rats. **Nutrition Cancer**, v.45, p.190-194, 2003. doi.org/10.1207/S15327914NC4502_08
- LEAT, W.M.F. et al. Fatty-acid composition of depot fats from gnotobiotic lambs. **The Journal of Agricultural Science**, v.88, n.1, p.175-179, 1997. <https://doi.org/10.1017/S0021859600033918>
- LEE, S.O. et al., Bioconversion of linoleic acid into conjugated linoleic acid during fermentation and by washed cells of *Lactobacillus reuteri*. **Biotechnology Letters**, v.25, p. 935-938, 2003. <https://doi.org/10.1023/A:1024084203052>
- LI, Z. et al. Butyrate reduces appetite and activates brown adipose tissue via the gut-brain neural circuit. **Gut**, v.67, p.1269-1279, 2018. doi.org/10.1136/gutjnl-2017-314050
- LIM, J.N. et al. Trans-11 18:1 vaccenic acid (TVA) has a direct anti-carcinogenic effect on MCF-7 human mammary adenocarcinoma cells. **Nutrients**, v.6, p.627-636, 2014. <https://doi.org/10.3390/nu6020627>
- LIN, H.V. et al. Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. **PLoS ONE**, v.7, 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035240>
- LOPES, E.C. Performance and carcass characteristics of broilers fed whole corn germ. **Brazilian Journal of Animal Science**, 48:e20180247. doi.org/10.1590/rbz4820180247
- LU, Y. et al. Short chain fatty acids prevent high-fat-diet-induced obesity in mice by regulating G protein-coupled receptors and gut microbiota. **Scientific Reports**, v.6, p.37589, 2016. <https://doi.org/10.1038/srep37589>
- LUCAS, H.L. LOOSLI, J.K. The effect of fat upon the digestion of nutrients by dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.3 p. 3-11, 1944. <https://doi.org/10.2527/jas1944.0313>
- MAIA, M.R.G. et al. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. **BMC Microbiol**, v.10 p.52, 2010. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-52>

National Research Council (NRC), Nutrient requirements of dairy cattle. The National Academies Press, 2001.

MCCANN, S.E. et al. Dietary intake of conjugated linoleic acids and risk of premenopausal and postmenopausal breast cancer, Western New York Exposures and Breast Cancer Study (WEB Study). **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v.13, p.1480-1484, 2004. PMID: 15342449

MCGOWAN, M.M. et al. A proof of principle clinical trial to determine whether conjugated linoleic acid modulates the lipogenic pathway in human breast cancer tissue. **Breast Cancer Research and Treatment**, v.138, p.175-183, 2013. doi.org/10.1007/s10549-013-2446-9

MCKAIN, N., SHINGFIELD, K.J, WALLACE, R.J. Metabolism of conjugated linoleic acids and 18:1 fatty acids by ruminal bacteria: products and mechanisms. **Microbiol**, v.156, p.579-588, 2010. <https://doi.org/10.1099/mic.0.036442-0>

MILLER, W.F. et al. Comparison of full-fat corn germ, whole cottonseed, and tallow as fat sources for lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.92, p. 3386-3391, 2009. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2118>

MIN, L. et al. Nutritional strategies for alleviating the detrimental effects of heat stress in dairy cows: a review. **International Journal of Biometeorology**, v.63, p.1283-1302, 2019). <https://doi.org/10.1007/s00484-019-01744-8>

MIOTTO, F.R.C. et al. Desempenho produtivo de tourinhos Nelore x Limousin alimentados com dietas contendo gérmen de milho integral. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 40, n. 4, p. 624 -632, 2009.

MOHAMMADZADEH, M. et al. Effect of conjugated linoleic acid supplementation on inflammatory factors and matrix metalloproteinase enzymes in rectal cancer patients undergoing chemoradiotherapy. **Integrative Cancer Therapies**, v.12, p.496-502, 2013. doi.org/10.1177/1534735413485417

MORAES, G.S.O. et al. Cactus [*Opuntia stricta* (Haw.) Haw] cladodes and corn silage: How do we maximize the performance of lactating dairy cows reared in semiarid regions? **Livestock Science**, v.221, p. 133-138, 2019.<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.01.026>

MOREAU, R.A. JOHNSTON, D.B. HICKS, K. B. The influence of moisture content and cooking on the screw pressing and prepressing of corn oil from corn germ. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 82, n. 11, p. 851 - 854, 2005.

NAVARRO, V. et al. Effects of conjugated linoleic acid on body fat accumulation and serum lipids in hamsters fed an atherogenic diet. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v.59, p.193-199, 2003. doi.org/10.1007/BF03179915

NAGAO, K. et al. Inoue, N., Wang, Y.M., Yanagita, T. Conjugated linoleic acid enhances plasma adiponectin level and alleviates hyperinsulinemia and hypertension in Zucker diabetic fatty (fa/fa) rats. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.310, p.562-566, 2003. doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.09.044

- NETTLETON, J.A. et al. Saturated fat consumption and risk of coronary heart disease and ischemic stroke: a science update. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v.70, p.26-33, 2017. <https://doi.org/10.1159/000455681>
- PAES, M.C.D. Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho. Circular Técnica 75. Minas Gerais. 2006.
- PAKIET, A. et al. The Effect of One Anastomosis Gastric Bypass on Branched-Chain Fatty Acid and Branched-Chain Amino Acid Metabolism in Subjects with Morbid Obesity. **Obesity Surgery**, v.30, p.304-312, 2020. doi.org/10.1007/s11695-019-04157-z
- PALMQUIST, D.L., JENKINS, T.C. A 100-Year Review: Fat feeding of dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.100, p.10061-10077, 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12924>.
- PALMQUIST, D.L., JENKINS, T.C. Challenges with fats and fatty acid methods. **Juornal Animal Science**, v.81, p. 3250-3254, 2003. doi.org/10.2527/2003.81123250x
- PANTOJA, J. FIRKINS, J.L. EASTRIDGE, M.L. Fatty acid digestibility and lactation performance by dairy cows fed fats varying in degree of saturation and different fiber sources. **Journal Dairy Science**, v.79, p. 429-437, 1996. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76382-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76382-8)
- PARIZA, M.W. et al. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: Evidence and speculation. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and medicine**, v.223, p.8-13, 2000. [doi: 10.1046 / j.1525-1373.2000.22302.x](https://doi.org/10.1046/j.1525-1373.2000.22302.x)
- PARIZA, M.W. et al. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. **Progress in Lipid Research**, v.40, p.283-298, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(01\)00008-X](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(01)00008-X)
- PARK, Y. et al. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. **Lipids**, v.32, p.853-858, 1997. doi.org/10.1007/s11745-997-0109-x
- PARK, Y. et al. Storkson, J.M., Albright, K.J., Liu, W., Pariza, M.W. Evidence that the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. **Lipids**, v.34, p.235-241, 1999. doi.org/10.1007/s11745-999-0358-8
- PAULA, T.A. et al. Concentrate levels associated with a new genotype of cactus (*Opuntia stricta* [Haw]. Haw.) cladodes in the diet of lactating dairy cows in a semi-arid region. **The Journal of Agricultural Science**, v.156, p.1251-1258, 2019. <https://doi.org/10.1017/S002185961900011X>
- PLAIZIER, J.C. et al. McBride. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. **Vet. J**, v. 176 p. 21-31, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.016><https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.016>
- RABIEE, AR. et al. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and metaregression. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.3225-3247, 2012. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4895>

- RACINE, N.M. et al. Effect of conjugated linoleic acid on body fat accretion in overweight or obese children. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.91, p.1157–1164, 2010. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.28404>
- RAN-RESSLER, R.R. et al. Branched-chain fatty acid content of foods and estimated intake in the USA. **British Journal of Nutrition**, v.112, p.565-572, 2014. doi.org/10.1017/S0007114514001081
- RAN-RESSLER, R.R. et al. Branched chain fatty acids reduce the incidence of necrotizing enterocolitis and alter gastrointestinal microbial ecology in a neonatal rat model. **PLoS One**, 6, Article e29032, 2011. doi.org/10.1371/journal.pone.0029032
- RAN-RESSLER, R. et al. Branched Chain Fatty Acids Are Constituents of the Normal Healthy Newborn Gastrointestinal Tract. **Pediatric Research**, v.64, p.605-609, 2008. doi.org/10.1203/PDR.0b013e318184d2e6
- RAUSCH, K.D. BELYEA, R.L. The future of coproducts from corn processing. **Appl Biochem Biotechnol**, v.128, p.47-86, 2006. <https://doi.org/10.1385/ABAB:128:1:047>
- RIBEIRO, A.S. et al. Effect of Conjugated Linoleic Acid Associated With Aerobic Exercise on Body Fat and Lipid Profile in Obese Women: A Randomized, Double-Blinded, and Placebo-Controlled Trial. **Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab**, v.26, p.135-144, 2016. [doi: 10.1123/ijsnem.2015-0236](https://doi.org/10.1123/ijsnem.2015-0236)
- RUIZ-NÚÑEZ, B. et al. The relation of saturated fatty acids with low-grade inflammation and cardiovascular disease. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.36, p.1-20, 2016. doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.12.007
- SANTOS, R.D. et al. Divergence in nutrient concentration, in vitro degradation and gas production potential of spineless cactus genotypes selected for insect resistance. **Journal of Agricultural Science**, v.156, p.450-456, 2018. <https://doi.org/10.1017/S002185961800031X>
- SCHMIDELY, P. Digestion of fatty acids in ruminants: A meta-analysis of flows and variation factors. 1. Total fatty acids. **Animal**, v.2, p. 677-690, 2008. <https://doi.org/10.1017/S1751731108001717>
- SÉBÉDIO, J.L. et al. Geometry of conjugated double bonds of CLA isomers in a commercial mixture and in their hepatic 20:4. **Lipids**, v.34, p.1319-1325, 1999. doi.org/10.1007/s11745-999-0484-3
- SHINGFIELD, K.J. et al. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. **Animal**, v.4, p.1140-1166, 2010. <https://doi.org/10.1017/S1751731110000510>
- SHINGFIELD, K.J. WALLACE, R.J. CHAPTER 1: Synthesis of Conjugated Linoleic Acid in Ruminants and Humans, in *Conjugated Linoleic Acids and Conjugated Vegetable Oils*, 2014, pp. 1-65. <https://doi.org/10.1039/9781782620211-00001>
- SHINGFIELD, K.J. et al. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. **Animal**, v.7, p.132-162, 2013. doi.org/10.1017/S1751731112001681

SHINGFIELD, K.J., GRIINARI, J.M. Role of biohydrogenation intermediates in milk fat depression. **Europa Journal of Lipid Science Technology**, v.109, p.799-816, 2007. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700026>

SHIRAISHI, R. et al. Conjugated linoleic acid suppresses colon carcinogenesis in azoxymethane-pretreated rats with long-term feeding of diet containing beef tallow. **Journal of Gastroenterology**, v.45, p.625-635, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00535-010-0206-8>

SHULTZ, T.D. et al. Inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid and beta-carotene on the in vitro growth of human cancer cells. **Cancer Letters**, v.63, p.125-133, 1992. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(92\)90062-Z](https://doi.org/10.1016/0304-3835(92)90062-Z)

SILVA, E.C. et al. Substituição do fubá de milho por gérmen integral de milho na dieta de ovinos. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.48, n.4, p.442-449, 2013. doi: 10.1590/S0100-204X2013000400013

SILVA, C.F. et al. Intake, digestibility, water balance, ruminal dynamics, and blood parameters in sheep fed diets containing extra-fat whole corn germ. **Animal Feed Science and Technology**, v. 285, p. 115248, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115248>

SIQUEIRA, T.D.Q. et al. Cactus cladodes associated with urea and sugarcane bagasse: an alternative to conserved feed in semi-arid regions. **Trop Anim Health Prod.** v.51, p.1975-1980, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01895-1>

SOEL, S.M. et al. Influence of conjugated linoleic acid isomers on the metastasis of colon cancer cells in vitro and in vivo. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.18, p.650-657, 2007. doi.org/10.1016/j.jnutbio.2006.10.011

SOUZA, R.J. et al. Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. **BMJ**, v.351, h3978, 2015. doi.org/10.1136/bmj.h3978

SWANSON, D. et al. Omega-3 Fatty Acids EPA and DHA: Health Benefits Throughout Life. **Advances in Nutrition**, v.3, p.1-7, 2012. doi:/10.3945/11.000893

SWIFT, R.W. et al. The effect of dietary fat on utilization of the energy and protein of rations by sheep. **Journal Animal Science**, v.7, p. 475-485, 1948. <https://doi.org/10.2527/1948.74475x>

SWIFT, R.W. et al. Digestibility of rations for ruminants as affected by proportions of nutrientes. **Journal Animal Science**, v.6, p.432-444,1947. <https://doi.org/10.2527/jas1947.64432x>

TAO, X.M. et al. Enhanced anticancer activity of gemcitabine coupling with conjugated linoleic acid against human breast cancer in vitro and in vivo. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 82, p. 401-409, 2012. doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.06.007

TAN, J. et al. The role of short-chain fatty acids in health and disease. **Advances in Immunology**, v.121, p.91-119, 2014. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9>

THORNING, T. K., BERTRAM H. C., BONJOUR, J.P. Whole dairy matrix or single nutrients in assessment of health effects: current evidence and knowledge gaps. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.105, p.1033-45, 2017. <https://doi.org/10.3945/ajcn.116.151548>

THOM, E. et al. Conjugated linoleic acid reduces body fat in healthy exercising humans. **Journal of International Medical Research**, v. 29, p.392-396, 2001. doi.org/10.1177/147323000102900503.

TORADO, M. et al.. Prickly Pear By-Product in the Feeding of Livestock Ruminants: Preliminary Investigation. **Animals**, v.10, p.49, 2020. <https://doi.org/10.3390/ani10060949>
TORRES, L.C.L. et al. Substituição da palma-gigante por palma-miúda em dietas para bovinos em crescimento e avaliação de indicadores internos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p. 2264–2269, 2009. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009001100028>.

TORAL, P. et al. Review: Modulating ruminal lipid metabolism to improve the fatty acid composition of meat and milk. Challenges and opportunities. **Animal**, v.12, S272-S281, 2018. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001994>

TORAL, P.G. et al. In vitro response to EPA, DPA, and DHA: comparison of effects on ruminal fermentation and biohydrogenation of 18-carbon fatty acids in cows and ewes. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.6187-6198, 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12638>

TORAL, P.G. et al. Comparison of the nutritional regulation of milk fat secretion and composition in cows and goats. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.7277-7297, 2015. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9649>

VAHMANI, P. et al. Iso- but not anteiso-branched chain fatty acids exert growth-inhibiting and apoptosis-inducing effects in MCF-7 cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.67, p.10042-10047, 2019. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b03549>

VAN WIJLEN, R.P.J. et al. Grass-based ruminant production methods and human bioconversion of vaccenic acid with estimations of maximal dietary intake of conjugated linoleic acids. **International Dairy Journal**, v.20, p.433-448, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.01.008>

VASTA, V. et al. Invited review: Plant polyphenols and rumen microbiota responsible for fatty acid biohydrogenation, fiber digestion, and methane emission: Experimental evidence and methodological approaches. **Journal of Dairy Science**, v.102, p.3781-3804, 2019. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14985>

VENN-WATSON, S. et al. Efficacy of dietary odd-chain saturated fatty acid pentadecanoic acid parallels broad associated health benefits in humans: could it be essential? **Scientific Reports**, v.10, p.8161, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64960-y>

VLAEMINCK, B. et al. Milk odd-and branched-chain fatty acids in relation to the rumen fermentation pattern. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3954-3964, 2006. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72437-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72437-7)

WANDERS, A.J. et al. Trans fat intake and its dietary sources in general populations worldwide: A systematic review. **Nutrients**, v.9, p. 840, 2017. <https://doi.org/10.3390/nu9080840>

WANG, X.F. et al. *Trans*-11 vaccenic acid improves insulin secretion in models of type 2 diabetes in vivo and in vitro. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.60, p.846-857, 2016. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500783>

WARD, G.M., REID, J.T. Mineral metabolism studies in dairy cattle: II. Effect of calcium and manganese and other trace elements on the metabolism of lipids during early lactation **The Journal of Nutrition**, v.35, p.249-255, 1948. <https://doi.org/10.1093/jn/35.2.249>

WELD, L.E., ARMENTANO, L.E. Milk fat secretion in lactating dairy cattle is influenced by soybean particle size and fatty acid profile. **Journal of Dairy Science**, v.99, p. 337, 2016. <https://doi.org/10.2527/jam2016-0718>

YAMASAKI, M. et al. Effect of dietary conjugated linoleic acid on the in vivo growth of rat hepatoma dRLh-84. **Nutrition Cancer**, v.40, p.140-148, 2001. https://doi.org/10.1207/S15327914NC402_10

YAMASAKI, M. et al. Dietary effect of conjugated linoleic acid on lipid levels in white adipose tissue of Sprague-Dawley rats. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v.63, p.1104-1106, 1999. doi.org/10.1271/bbb.63.1104

YANG, B. et al. Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. **J. Funct. Foods**. v.15, p.314-325, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.050>

ZENG, Y. et al. The dietary c9, t11-conjugated linoleic acid enriched from butter reduces breast cancer progression in vivo. **Journal Food Biochemistry**, v.44, e13163, 2020. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13163>

ZHANG, Y. et al. Butyrate induces cell apoptosis through activation of JNK MAP kinase pathway in human colon cancer RKO cells. **Chemico-Biological Interactions**, v.185, p.174-181,2010. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.03.035>

CAPÍTULO 1

Gérmen integral de milho extra gordo em dieta para vacas em lactação: consumo, e digestibilidade dos nutrientes, produção e composição do leite

Resumo: Objetivou-se avaliar o efeito de diferentes níveis de inclusão do gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX) sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes, balanço de nitrogênio (N), síntese e eficiência de proteína microbiana, produção e composição do leite em vacas leiteiras. Dez vacas da raça Holandês com 90 ± 10 dias de lactação e produção de $24,2 \pm 3,5$ kg de leite/dia foram distribuídas em tratamentos dietéticos que consistiram de níveis crescentes de GIMEX (0; 4; 8; 12 e 16%) com base na matéria seca (MS) em um delineamento Quadrado Latino 5 x 5 replicado com períodos de 21 dias. Todas as dietas continham proporções semelhantes de palma forrageira (*Opuntia stricta* [Haw]. Haw), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) e concentrado (34:32:34, respectivamente), mas o fubá de milho foi gradualmente substituído (0; 25; 50; 75 e 100%) pelo GIMEX no concentrado. Com exceção do consumo de EE, que aumentou linearmente, os consumos de todos os nutrientes decresceram linearmente com a inclusão do GIMEX. A digestibilidade da MS, MO e FDN reduziu, enquanto a digestibilidade do EE aumentou linearmente. Não houve alterações sobre a digestibilidade da PB e do CNF. O consumo de N e a excreção diária de N na urina e nas fezes diminuíram, enquanto a eficiência de utilização do N aumentou linearmente com a inclusão do GIMEX. O N excretado no leite apresentou resposta quadrática, com excreção máxima estimada em 130 g/dia com 7,15% de GIMEX. Não houve efeito significativo sobre o N retido, síntese e eficiência de proteína microbiana em resposta a inclusão de GIMEX. A maior produção de leite foi estimada em 25,4 kg/dia com o nível de 7,6% de GIMEX. Por outro lado, a produção de leite corrigida para gordura (PLC) reduziu linearmente com a inclusão do GIMEX. A inclusão de GIMEX diminuiu linearmente as concentrações de gordura e sólidos totais, mas sem alteração nas concentrações de proteína e lactose do leite. A eficiência alimentar bruta (EAB) máxima foi estimada em 1,47 com 11% de inclusão do GIMEX. No entanto, não houve efeito da inclusão do GIMEX sobre a eficiência alimentar ajustada (EAA). Não é recomendada a inclusão de GIMEX em dietas para vacas em lactação contendo palma forrageira (34%) e cana-de-açúcar (32%), em função da redução no consumo de nutrientes e teor de gordura do leite, além da produção de leite corrigida para gordura.

Palavras chave: alimentos alternativos, fonte de gordura, forragens, semiárido

Abstract: The objective of this study was to evaluate the effect of different levels of extra-fatty whole corn germ (EFWCG) inclusion on nutrient intake and digestibility, nitrogen balance, microbial protein synthesis and efficiency, milk production and composition in dairy cows. Ten Holstein cows with 90 ± 10 days of lactation and production of 24.2 ± 3.5 kg of milk/day were assigned to diet treatments consisting of increasing levels of EFWCG (0; 4; 8; 12 and 16%) based on dry matter (DM) in a 5 x 5 Latin square design replicated with periods of 21 days. All diets contained similar proportions of forage cactus (*Opuntia stricta* [Haw]. Haw), sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) and concentrate (34:32:34, respectively), but cornmeal was gradually replaced (0; 25; 50; 75 and 100%) by EFWCG in the concentrate. With the exception of the consumption of EE which increased linearly, the consumption of all nutrients decreased linearly with the inclusion of EFWCG. The digestibility of DM, MO and NDF reduced, while the digestibility of EE increased linearly with the inclusion of EFWCG. There were no changes on the digestibility of CP and CNF. N consumption and daily N excretion in urine and faeces decreased, while N utilization efficiency increased linearly with the inclusion of EFWCG. The N excreted in milk showed a quadratic response, with maximum excretion estimated at 130 g/day with 7.15% of EFWCG. There was no significant effect on N retained, microbial protein synthesis and efficiency in response to inclusion of EFWCG. The highest milk production was estimated at 25.4 kg/day with a level of 7.6% of EFWCG. On the other hand, the production of milk corrected for fat (MCF) linearly reduced with the inclusion of EFWCG. The inclusion of EFWCG linearly decreased total fat and solids concentrations, but no change in milk protein and lactose concentrations. The maximum gross feed efficiency (GFE) was estimated at 1.47 with 11% inclusion of EFWCG. On the other hand, there was no effect of the inclusion of EFWCG on the adjusted feed efficiency (AFE). The inclusion of EFWCG in diets for lactating cows containing forage cactus (34%) and sugarcane (32%) is not recommended, due to the reduction in the consumption of nutrients and milk fat content, in addition to the production of milk corrected for fat.

Keywords: alternative foods, fat source, forages, semiarid.

1. INTRODUÇÃO

A inclusão de gordura suplementar na dieta de vacas em lactação é uma prática usualmente recomendada para aumentar a densidade energética das dietas e promover incremento na produção e manipulação da composição do leite (PALMQUIST e JENKINS, 2017). A suplementação com gordura dietética permite reduzir o incremento calórico, e pode ser usada de forma estratégica em situações de baixa ingestão de matéria seca, como em ambientes com elevada temperatura (realidade muito comum no Brasil), ou ainda em situações de estresse calórico (COLLIER et al., 2019).

Geralmente, a seleção de uma fonte de gordura suplementar para vacas em lactação é baseada na sua capacidade de melhorar a produção e composição do leite e a relação custo/benefício. Nesse cenário, a suplementação com coprodutos sólidos do milho na dieta de vacas leiteiras, apresenta-se como uma opção mais sustentável, prática e menos onerosa quando comparada aos lipídios vegetais (óleos e sementes vegetais).

O gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX) é um coproduto sólido derivado da moagem úmida do milho, processo no qual o gérmen é separado por densidade, que resulta em um coproduto com alto teor de gordura (~50%) altamente insaturada, composta de aproximadamente 56% de ácido linoleico, 28% de ácido oleico, 11% de ácido palmítico, 2% de ácido esteárico, 1,3% de ácido linolênico e 0,5% de ácido araquidônico (MILLER et al., 2009). Apesar do seu alto potencial energético ser positivo para a inclusão em dietas de ruminantes, há poucos relatos na literatura sobre os efeitos da utilização do GIMEX em dieta para vacas leiteiras.

O custo crescente do fubá de milho gerou um interesse renovado em alimentar vacas leiteiras com teor reduzido de amido na dieta. Além disso, em regiões de clima quente, devido a maior ocorrência de estresse calórico, uma redução significativa na ingestão de ração em vacas leiteiras resulta em balanço energético negativo, durante o qual o fornecimento do fubá de milho pode não atender às necessidades de lactação (WANG et al., 2010). A substituição parcial do fubá de milho por fontes de gordura econômicas e de maior praticidade de utilização em dietas para vacas leiteiras, representa uma alternativa potencial para ajudar a superar esses problemas.

Hipotetizou-se que a substituição do fubá de milho pelo GIMEX melhora as respostas produtivas de vacas em lactação. Para tanto, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes níveis de inclusão do GIMEX em substituição ao fubá de milho sobre o

consumo e digestibilidade dos nutrientes, balanço de nitrogênio, síntese de proteína microbiana, produção e composição do leite em vacas leiteiras.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Cuidados com animais e local do experimento

Os procedimentos com os animais foram realizados de acordo com as orientações da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Licença nº 143/2019).

O experimento foi conduzido na Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), localizado no município de São Bento do Una-PE, cujo clima é classificado como semiárido quente (BWh), segundo o sistema de classificação de Köppen (1948), situado na latitude 08°31'22" S e longitude 36°06'40" W, com precipitação média anual de 655 mm e temperatura média de 23,8°C (FARIAS et al., 2000).

2.2 Animais, delineamento experimental e dietas

Foram utilizadas dez vacas da raça Holandês, pesando 511±15 kg, com 90±10 dias de lactação e produzindo 24,2 ± 3,5 kg de leite/dia. Antes do período experimental, todos os animais foram adaptados às instalações e práticas de manejo por três semanas, durante as quais uma dieta padrão composta por de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), palma forrageira (*Opuntia stricta* [Haw]. Haw) e um concentrado comercial foi fornecida *ad libitum*. Posteriormente, as vacas foram distribuídas aleatoriamente em cinco dietas experimentais em um delineamento Quadrado Latino 5×5 replicado com períodos experimentais de 21 dias (14 dias para adaptação às dietas e os últimos sete dias para amostragem e coleta de dados).

Os animais foram alojados em baias individuais, medindo 24m², providas de comedouros e bebedouros, com piso de concreto (parte coberta com cocho individual) e terra batida com cama de areia, sendo separadas entre si por cercas de madeira. Na área de terra batida, para melhor conforto das vacas, foi utilizado sombrite de 80 “mesh”.

As dietas experimentais consistiram em quantidades crescentes do GIMEX (0; 4; 8; 12 e 16%) com base na matéria seca (MS). Todas as dietas continham proporções semelhantes de palma forrageira (*Opuntia stricta* [Haw]. Haw), cana-de-açúcar e concentrado (34:32:34, respectivamente), mas o fubá de milho foi gradualmente substituído (0; 25; 50; 75 e 100%) pelo GIMEX no concentrado. As forragens utilizadas foram processadas diariamente em máquina forrageira e foram fornecidas frescas e

picadas. O GIMEX foi obtido pela moagem úmida do milho, em que o gérmen é separado por densidade, resultando em um coproduto com alto teor de gordura e alta estabilidade oxidativa (Ingredion™). As composições químicas das forragens e dos concentrados utilizados nas dietas estão apresentadas na Tabela 1, enquanto as proporções dos ingredientes e composição química das dietas são apresentadas na Tabela 2.

As dietas foram formuladas de acordo com as recomendações do NRC (2001) para atender às necessidades nutricionais de vacas leiteiras com produção de 25 kg de leite/dia, com 3,5% de gordura, e foram fornecidas *ad libitum*, na forma de mistura completa, duas vezes ao dia após a ordenha da manhã e da tarde, com ajuste diário que permitiu $8,02 \pm 1,62\%$ de sobras do total de MS fornecido.

Tabela 1: Composição química (g/kg MS, salvo indicação ao contrário) dos ingredientes da ração utilizados nas dietas experimentais

Item	Cana de açúcar	POEM ^a	Farelo soja	GIMEX ^b	Fubá de milho
Matéria seca ^c	275	126	897	949	902
Matéria orgânica	969	880	880	980	984
Proteína bruta	21,5	49,8	480	100	90
Extrato etéreo	5,26	14,6	32,6	490	32
Fibra em detergente neutro ^d	450	257	133	247	135
Amido	43	167	58,9	5,8	709
Carboidratos não fibrosos ^e	491	555	296	130	727
Ácidos graxos totais (AG)	2,7	14,2	25,9	485,1	43,1
AG (% do total de AG)					
14:0	nd ^f	1,04	0,27	0,04	0,09
16:0	31,2	24,2	21,8	13,2	18,2
18:0	9,61	3,73	2,4	2,18	1,42
18:1 n-9	16,7	3,12	12,2	34,3	26,4
18:2 n-6	33,3	30,0	56,9	47,4	50,7
18:3 n-3	6,19	33,8	4,48	0,90	1,89

^a Palma Orelha de Elefante Mexicana

^b Gérmen integral de milho extra gordo

^c g/kg matéria natural.

^d FDN testado com amilase estável ao calor e corrigido para cinzas e compostos nitrogenados

^e Calculado conforme descrito por Hall (2000).

^f Não detectado

Tabela 2: Proporção de ingredientes e composição química (g/kg MS) das dietas experimentais

Item	Níveis de inclusão do GIMEX (% MS)				
	0	4	8	12	16
Ingredientes					
Cana-de-açúcar	320	320	320	320	320
Palma forrageira	340	340	340	340	340
Farelo de soja	147	148	149	150	151
Fubá de milho	160	120	80	40	0
Gérmen extra gordo (GIMEX)	0	40	80	120	160
Ureia+Sulfato de amônia ^a	13	12	11	10	9
Premix ^b	15	15	15	15	15
Sal	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Composição química					
Matéria seca	236	236	234	237	236
Matéria orgânica	918	917	917	917	917
Proteína bruta	143	141	140	139	137
Extrato etéreo	16,6	34,7	53,1	71,7	89,8
Fibra em detergente neutro ^c	273	278	282	286	291
Amido ^d	193	165	136	108	80
Carboidratos não fibrosos ^e	442	421	400	379	358
Energia líquida, Mcal/kg MS ^f	1,65	1,63	1,72	1,75	1,73
Ácidos graxos					
C16:0	3,49	5,72	7,98	10,3	12,5
C18:0	0,45	0,85	1,24	1,64	2,03
C18:1 n-9	2,57	8,72	14,9	21,2	27,3
C18:2 n-6	7,38	15,6	24,0	32,4	40,7
C18:3 n-3	1,99	2,13	2,28	2,42	2,57

^a proporção de 9:1 em matéria natural.

^bSuplemento comercial contendo os seguintes minerais e vitaminas (por kg): 205 g Ca, 60 g P, 15 mg Co, 700 mg Cu, 10 mg Cr, 700 mg Fe, 40 mg I, 1.600 mg Mn, 19 mg Se, 2.500 mg Zn, 600 mg F, 400.000 UI de vitamina A, 2.400 UI de vitamina E e 1.000 mg de monensina.

^c FDN testado com uma amilase estável ao calor e corrigido para cinzas e compostos nitrogenados.

^d Valores calculados usando o teor de amido de ingredientes individuais da ração e suas proporções nas dietas.

^e Calculado conforme descrito por Hall (2000).

^f Calculado de acordo com o NRC (2001).

2.3 Coleta de dados e amostras

Do 15° ao 21° dias de cada período experimental, diária e individualmente, antes do fornecimento da ração pela manhã, foram coletadas amostras de palma e cana-de-açúcar, assim como as sobras dos alimentos fornecidos no dia anterior, formando-se amostras compostas individuais ao final de cada período experimental, que foram identificadas e armazenadas em freezer a -20°C para análises posteriores.

Para estimativa da digestibilidade aparente da matéria seca e seus constituintes, amostras de fezes foram coletadas diretamente na ampola retal de todas as vacas, uma vez ao dia, entre o 16° e 20° dias de cada período experimental, aproximadamente às 06h:00, 08h:00, 10h:00, 12h:00 e 14h:00, respectivamente (TORRES et al., 2009). Ao final de cada período experimental, as amostras foram compostas e homogeneizadas por animal.

No último dia de cada período experimental, quatro horas após a alimentação matinal, amostras *spot* de urina foram coletadas, durante micção estimulada por massagem na vulva das vacas. Uma alíquota de 10 mL foi filtrada em gaze, diluída em 40 mL de H_2SO_4 0,036 N e armazenada a -20°C , para quantificação das concentrações de alantoína, nitrogênio (N) total, ácido úrico e creatinina.

As vacas foram ordenhadas mecanicamente, duas vezes ao dia (06h00 e 15h00), e a produção de leite foi registrada entre o 15° e 21° dias de cada período experimental. No 18° e 19° dias foram coletadas amostras individuais de leite (manhã e tarde), de cada período experimental, fazendo-se amostras compostas, proporcionalmente à produção em cada sessão de ordenha. Foram retiradas de cada amostra composta uma alíquota de 10 mL de leite, que foi desproteïnizada com 5 mL de ácido tricloroacético (25%), filtrada e armazenada a -20°C para análise de alantoína. Outra alíquota de 50 mL foi retirada e armazenada em recipiente com conservante (Bronopol®), mantido entre 2 e 6 °C, para análise de proteína, gordura, lactose e sólidos totais.

2.4 Análises Químicas

Ao final do experimento, as amostras de alimentos, sobras e fezes foram descongeladas, pré-secas (55°C por 72h) em estufa de ventilação forçada e processadas em moinho de facas (Modelo Thomas Wiley Co, Swedesboro, NJ), utilizando peneiras com 1 mm de diâmetro para análises químicas e 2 mm para incubação ruminal *in situ*.

As amostras de alimentos, sobras e fezes foram avaliadas quanto aos conteúdos de MS (método 934,01), matéria orgânica (MO, método 930,05), cinzas (método 942,05),

proteína bruta (PB, método 968,06) e extrato de etéreo (EE, método 920,39), de acordo com AOAC (2005). A fibra em detergente neutro (FDN) foi determinada de acordo com Mertens (2002) usando uma alfa-amilase termoestável sem sulfito de sódio e corrigida para cinzas residuais. Os valores de FDN também foram corrigidos para compostos nitrogenados conforme descrito por Licitra et al. (1996). Os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados de acordo com Hall (2000), enquanto os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados conforme descrito por Weiss (1999).

Um segundo conjunto de amostras dos ingredientes da ração foi liofilizado (modelo L120, Liotop, Liobras, São Carlos, Brasil), moído em um moinho Wiley equipado com uma peneira de tela de 1 mm e analisado quanto à composição de AG de acordo com Sukhija e Palmquist (1988) com adaptações (PALMQUIST e JENKINS, 2003).

A excreção diária fecal foi estimada utilizando-se a FDN indigestível (FDNi) como marcador interno. A concentração de FDNi corrigida para MS, expressa como livre de cinzas residuais, foi determinada por incubação *in situ* dos alimentos e fezes por 288 h de acordo com Krizsan e Huhtanen (2013).

As análises de ureia, ácido úrico e creatinina na urina foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do Departamento de Medicina veterinária da UFRPE, por meio de kits comerciais (LABTEST®), sendo a leitura realizada em analisador bioquímico Labmax 240 (Labtest, Prestige Model 24i, Tóquio, Japão). As análises de alantoína na urina foram realizadas utilizando-se o método colorimétrico de acordo com Chen e Gomes (1992). A avaliação de N na urina foi realizada pelo método de destilação de Kjeldahl de acordo com o método INCT-CA no. N-001/1 (DETMANN et al., 2012).

As análises de alantoína no leite foram realizadas utilizando-se o método colorimétrico, de acordo com Chen e Gomes (1992); enquanto as concentrações de gordura, proteína, lactose e ureia no leite foram analisadas por espectrometria infravermelha média (Bentley Instruments, Bentley FTS, Chaska, MN, USA) de acordo com protocolos da Federação Internacional de Laticínios para amostras de leite integral (ISO 9622/IDF 141, 2013).

2.5 Cálculos

O consumo voluntário dos nutrientes foi calculado pela diferença entre a quantidade de nutriente fornecido e quantidade presente nas sobras. O peso corporal (PC) individual das vacas foi verificado no início e no final de cada período experimental, logo após a ordenha matinal.

O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes foi estimado utilizando-se a equação:

$$\text{CDA} = \frac{(\text{Quantidade de nutriente consumido} - \text{Quantidade excretada nas fezes})}{\text{Quantidade de nutriente consumido}}$$

Para a estimativa do volume urinário foi assumida uma excreção constante de creatinina de 24,05 mg/kg de PC (CHIZZOTTI et al., 2008). Posteriormente, a excreção de creatinina de cada animal foi dividida pela concentração de creatinina (mg/L) na amostra *spot*.

A excreção total de derivados de purina (EDP) foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretados na urina e da quantidade de alantoína excretada no leite. As purinas absorvidas (PA, mmol/dia) foram calculadas a partir da EDP (mmol/dia), por meio da equação $PA = (EDP - 0,512 \times PC_{0,75}) / 0,85$; em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purinas (VERBIC et al., 1990) e $0,512 \times PC_{0,75}$ a contribuição endógena para excreção de purinas obtida para vacas leiteiras (GONZALEZ-RONQUILLO et al., 2003). A síntese de compostos nitrogenados microbianos no rúmen (N_{mic} , g/dia) foi calculada em função das PA (mmol/dia), por meio da equação $N_{mic} = (70 \times PA) / (0,83 \times 0,116 \times 1000)$, em que 70 representa o conteúdo de N nas purinas (mg N/mmol); 0,83 a digestibilidade das purinas microbianas e 0,116 a relação N-purina: N total nas bactérias (CHEN e GOMES, 1992).

O N no leite foi obtido calculando-se a proteína total do leite dividido por 6,38. O balanço de nitrogênio (BN) foi obtido calculando-se a diferença entre o consumo de nitrogênio (CN) e o nitrogênio excretado nas fezes (N-fecal), na urina (N-urinário) e no leite (N-leite).

A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura (PLC) foi calculada segundo Sklan et al. (1992): $PLC [(0,432 + 0,1625 \times \% \text{ gordura}) \times \text{produção de leite em kg/dia}]$.

2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados usando o PROC MIXED do pacote estatístico SAS (Versão 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA) de acordo com o Quadrado Latino 5 × 5 balanceado para efeitos residuais, usando o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + Q_j + P_k + (A / Q)_{lj} + (T \times Q)_{ij} + \varepsilon_{ijkl}$$

Onde: Y_{ijkl} = variável dependente; μ = média geral; T_i = efeito fixo do tratamento i ; Q_j = efeito fixo do quadrado j ; P_k = efeito aleatório do período k ; $(A/Q)_{lj}$ = efeito aleatório do animal l no quadrado j ; $T \times Q_{ij}$, = efeito da interação tratamento i e o quadrado j ; ε_{ijkl} = erro residual aleatório.

Os efeitos lineares e quadráticos do aumento dos níveis de GIMEX na dieta foram testados por contrastes polinomiais ortogonais para tratamentos igualmente espaçados. As diferenças foram declaradas estatisticamente significativas em $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efeitos da inclusão de GIMEX sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes estão apresentados na Tabela 3. Com exceção do consumo de EE, que aumentou linearmente (0,330 para 1,51 kg/dia, $P < 0,01$), os consumos de todos os nutrientes decresceram linearmente ($P \leq 0,02$) com a inclusão de GIMEX.

A digestibilidade da MS, MO e FDN reduziu, enquanto que a do EE aumentou linearmente com a inclusão do GIMEX ($P \leq 0,01$). Não houve efeito sobre a digestibilidade da PB e do CNF ($P \geq 0,94$).

Tabela 3: Consumo e digestibilidade dos nutrientes em vacas alimentadas com níveis crescentes de gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX)

Item	Níveis de GIMEX (% MS)					EPM ^a	P-valor ^b	
	0	4	8	12	16		L	Q
Consumo, Kg/dia								
Matéria seca	18,9	18,7	17,8	16,8	16,4	0,48	<0,01	0,59
Matéria orgânica	18,4	18,2	17,6	16,6	16,2	0,46	<0,01	0,53
Proteína Bruta	2,82	2,81	2,63	2,41	2,33	0,08	<0,01	0,56
Extrato etéreo	0,330	0,660	0,964	1,25	1,51	0,038	<0,01	0,22
Fibra em detergente neutro	4,92	4,84	4,71	4,52	4,51	0,14	0,01	0,66
Carboidratos não fibrosos	9,72	8,81	8,55	7,61	6,82	0,28	<0,01	0,56
NE _L , Mcal/dia	31,5	30,6	30,5	29,4	28,6	1,21	0,02	0,82
Digestibilidade, g/kg MS								
Matéria seca	656	653	624	614	589	11,1	<0,01	0,54
Matéria orgânica	705	702	682	673	667	7,90	<0,01	0,87
Proteína Bruta	731	730	730	731	731	8,40	0,99	0,93
Extrato etéreo	807	816	833	846	864	6,40	<0,01	0,57
Fibra em detergente neutro	395	394	345	334	321	17,3	<0,01	0,94
Carboidratos não fibrosos	873	874	873	873	873	4,60	0,94	0,99

^a Erro padrão da média

^b Contrastes polinomiais ortogonais testando as respostas linear (L) e quadrática (Q) ao aumento dos níveis de GIMEX nas dietas.

O consumo de N e a excreção diária de N na urina e nas fezes diminuiu ($P \leq 0,03$), enquanto a eficiência de utilização do N aumentou linearmente ($P < 0,01$) com a inclusão de GIMEX. O N excretado no leite apresentou resposta quadrática ($P = 0,03$) com excreção máxima estimada em 130 g/dia com 7,15% de inclusão do GIMEX. Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) sobre o N retido, síntese e eficiência de proteína microbiana em resposta a inclusão de GIMEX (Tabela 4).

Tabela 4. Balanço e eficiência de nitrogênio, síntese e eficiência de proteína microbiana em vacas alimentadas com níveis crescentes de gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX)

Item	Níveis de GIMEX (% MS)					EPM ^a	P-valor ^b	
	0	4	8	12	16		L	Q
N consumido, g/dia	451	430	419	391	366	12,9	<0,01	0,49
N fecal, g/dia	181	159	148	127	120	10,6	<0,01	0,56
N urina, g/dia	119	119	119	114	107	4,0	0,03	0,32
N leite, g/dia	120	123	124	124	116	3,8	0,39	0,03
N retido, g/dia	29,6	29,0	29,0	26,3	22,3	3,95	0,18	0,52
N eficiência ^c	0,27	0,29	0,30	0,32	0,32	0,011	<0,01	0,38
Proteína microbiana								
Síntese, g/dia	1,671	1,673	1,682	1,600	1,492	86,2	0,11	0,33
Eficiência, g/kg	132	132	137	134	132	8,5	0,93	0,74
NDT								

^a Erro padrão da média.

^b Contrastes polinomiais ortogonais testando as respostas linear (L) e quadrática (Q) ao aumento dos níveis de GIMEX nas dietas.

^c Nleite/Nconsumido

A produção máxima de leite foi estimada em 25,4 kg/dia com 7,6% de inclusão do GIMEX. Por outro lado, a produção de leite corrigida para gordura (PLC) e os teores de gordura e sólidos totais do leite reduziram linearmente ($P < 0,01$) com a inclusão do GIMEX. Já os teores de proteína e lactose no leite não foram alterados ($P \geq 0,09$) pela inclusão do GIMEX (Tabela 5).

A eficiência alimentar bruta (EAB) máxima foi estimada em 1,47 com 11% de inclusão do GIMEX. Por outro lado, não houve efeito ($P = 0,09$) da inclusão do GIMEX sobre a eficiência alimentar ajustada (EAA) (Tabela 5).

Tabela 5: Produção, composição do leite e eficiência alimentar de vacas alimentadas com níveis crescentes de gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX)

Item	Níveis de GIMEX (% MS)					EPM ^a	<i>P</i> -valor ^b	
	0	4	8	12	16		L	Q
Produção								
Leite, (kg/dia)	23,8	25,1	25,5	24,6	23,3	0,82	0,29	<0,01
PLC, (kg/dia) ^c	23,7	23,4	22,1	20,1	18,4	0,63	<0,01	0,09
Composição do leite (%)								
Gordura (g/100g)	3,49	3,09	2,66	2,39	2,23	0,20	<0,01	0,15
Proteína (g/100g)	3,23	3,14	3,12	3,23	3,26	0,08	0,52	0,24
Lactose (g/100g)	4,53	4,64	4,57	4,63	4,58	0,04	0,41	0,09
Sólidos Totais (g/100g)	12,3	11,8	11,4	11,3	11,2	0,24	<0,01	0,09
EAA ^d	1,28	1,25	1,27	1,22	1,14	0,07	0,09	0,24
GAB ^e	1,29	1,35	1,46	1,49	1,41	0,09	0,07	0,01

^a Erro padrão da média.

^b Contrastes polinomiais ortogonais testando as respostas linear (L) e quadrática (Q) ao aumento dos níveis de GIMEX nas dietas.

^c Produção de leite corrigida para 3,5% de teor de gordura.

^d Eficiência de alimentação ajustada (PLC/CMS).

^e Eficiência alimentar bruta (produção de leite/CMS).

Conforme esperado, o teor de gordura das dietas aumentou gradativamente com a inclusão do GIMEX (1,66 para 8,98%), excedendo as concentrações recomendadas para evitar redução no consumo e digestibilidade dos nutrientes (NRC, 2001). Isso explica o aumento expressivo no consumo de EE (0,330 para 1510 kg/dia, respectivamente) com a inclusão do GIMEX, mesmo com menor consumo de matéria seca (CMS).

Possivelmente, a maior ingestão de gordura reduziu o CMS por meio de sinais de saciedade, que diminuem a duração ou a frequência das refeições (HARVATINE e ALLEN, 2005), como também através da menor digestibilidade dos nutrientes (MS, MOFDN), levando ao aumento do tempo de retenção das partículas do alimento no rúmen (HARVATINE e ALLEN, 2006; JENKINS e HARVATINE, 2014). Isto é ainda corroborado por resultados de uma meta-análise em que os autores (RABIEE et al., 2012) encontraram uma diminuição consistente no CMS quando diferentes fontes de gordura

(sebo, sais de cálcio, oleaginosas, gordura protegida) foram adicionadas em dietas para vacas leiteiras, notadamente com fontes lipídicas mais insaturadas, como é o caso do GIMEX.

Como consequência do menor CMS, os consumos de MO, PB, FDN, CNF e NE_L também foram reduzidos linearmente em resposta a inclusão GIMEX. Como esperado, houve um decréscimo nos níveis CNF (442 para 358g/kg de MS, respectivamente) nas dietas com 0 e 16% de GIMEX (Tabela 2), e isso também contribuiu para o menor consumo de CNF.

O aumento no consumo de gordura dietética encontrado também pode explicar a redução na digestibilidade aparente da MS, MO e CNF. A gordura dietética tem um efeito negativo na digestibilidade da fibra em ruminantes. Quando consumida em excesso, a gordura se adere às partículas do alimento, dificultando a adesão das bactérias, especialmente as fibrolíticas e celulolíticas, o que reduz a atividade das enzimas envolvidas na hidrólise da celulose, e diminui a digestão da fração fibrosa da dieta (JENKINS, 1993). Fontes de AGI têm um efeito negativo mais pronunciado na fermentação ruminal em comparação com os sais de cálcio e as gorduras hidrogenadas (NRC, 2021). Isso é atribuído a possíveis diferenças nos efeitos sobre as populações microbianas, pois é sabido que o AGI têm um efeito tóxico sobre algumas espécies de bactérias ruminais, especialmente as celulolíticas (MAO et al., 2010).

O aumento da digestibilidade aparente do EE pode ser devido a maior atividade da lipase causada pelo aumento da concentração de substrato, diluição de lipídios endógenos e/ou maior disponibilidade de ácidos graxos para absorção (HONING et al., 1983). Semelhante aos nossos resultados, foi verificado que a inclusão de GIMEX em dietas para cabras leiteiras também aumentou a digestibilidade aparente do EE (GALEANO et al. (2022), e que a digestibilidade dos ácidos graxos é maior quando aumenta o grau de insaturação da fonte lipídica (BOERMAN et al., 2015).

Sabendo-se que todas as dietas apresentaram níveis semelhantes de PB (Tabela 2), é possível afirmar que a redução do consumo de N encontrado está diretamente relacionado com o menor CMS em resposta a inclusão de GIMEX. O menor consumo de PB e, conseqüentemente de N, refletiu em menor excreção diária de N na urina e nas fezes, e isto evitou que houvesse efeito significativo sobre o N retido entre as dietas.

Como todas as dietas apresentaram balanço de N positivo, pode-se considerar que não houve perdas de compostos de nitrogenados durante o período experimental. Segundo Doreu e Felay (1995) a suplementação de gordura dietética diminui as concentrações de

N no ambiente ruminal, porém o fluxo duodenal de N para o leite pode permanecer inalterado, e isso pode explicar porque o N no leite não foi reduzido com a inclusão do GIMEX. Esses resultados foram suficientes para aumentar linearmente a eficiência de utilização de N em resposta à inclusão do GIMEX.

O metabolismo proteico no rúmen provavelmente não foi prejudicado, uma vez que a síntese e eficiência de síntese de proteína microbiana não foram alteradas pela inclusão do GIMEX. A exigência de proteína degradável no rúmen (PDR) muitas vezes se dá em função do crescimento microbiano, e este aumenta em função da quantidade de carboidrato fermentável no rúmen. Com a substituição do fubá de milho pelo GIMEX houve uma redução na quantidade de carboidratos prontamente fermentáveis (CNF) chegando ao rúmen e um aumento da quantidade de gordura, que não é digerida pelos microrganismos. Desse modo, sugere-se que a inclusão do GIMEX nas dietas promoveu uma menor necessidade de utilização dos compostos nitrogenados.

O aumento inicial na produção de leite observado até a inclusão de 7,6% do GIMEX pode ser, pelo menos em parte, explicado pela redução no teor de gordura do leite observada, uma vez que cerca de 50% da energia líquida para lactação (NE_L) são utilizados para suportar a síntese de gordura do leite (PALMQUIST, 2006). Como sugerido em outros estudos (APRIANITA et al., 2014; BOERMAN e LOCK, 2014), durante a DGL a glândula mamária pode desviar a energia poupada com a diminuição da síntese de gordura para aumentar a produção de leite. Já a redução na produção de leite quando maiores níveis de GIMEX foram adicionados na dieta pode ser atribuída aos efeitos prejudiciais da ingestão excessiva de AGI, conforme discutido anteriormente. De modo geral, a resposta quadrática observada na produção de leite é uma resposta típica à suplementação de gordura na dieta. Palmquist (1983) indicou que a resposta da produção de leite à gordura suplementar é curvilínea e diminui à medida que a concentração de gordura aumenta na dieta.

Abdelqader et al. (2009a) também observaram efeito quadrático na produção de leite de vacas alimentadas com níveis crescentes de gérmen de milho (obtido por meio do processo de moagem a seco) em uma dieta basal contendo silagem de milho e feno de alfafa como fontes de forragens. Porém, a queda na produção de leite foi observada com níveis mais altos de gordura na dieta (6% EE na dieta total) quando comparado ao nosso estudo (5% de EE na dieta total), e isso sugere que a dieta basal e também o processamento do gérmen podem influenciar a produção de leite.

Como resultado de mudanças contrastantes na produção de leite e CMS, a eficiência alimentar bruta (EAB) aumentou em 14,8% quando o GIMEX aumentou de 0 para 11%, e depois permaneceu razoavelmente constante à medida que os níveis de GIMEX aumentaram ainda mais na dieta. Em contraste, a eficiência alimentar ajustada (EAA) não foi alterada devido à redução na produção de leite corrigida para gordura (PLC) como resultado da diminuição acentuada no teor de gordura do leite, que caiu de 3,49% para 2,23, respectivamente, nas vacas alimentadas com 0 e 16% de GIMEX. Embora um aumento de EAB seja uma resposta positiva, uma vez que os custos de alimentação representam uma grande proporção das despesas gerais na pecuária leiteira, deve-se notar que a maioria dos sistemas de pagamento de leite atuais aplica bônus ou penalidades com base nos teores de gordura e proteína do leite. Nesse cenário, produzir leite com baixo teor de gordura pode diminuir a lucratividade da atividade, mesmo que o EAB seja aumentado.

Em geral, a DGL ocorre quando as vacas são alimentadas com dietas com baixo teor de fibras e suplementadas com óleos, ou quando lipídios marinhos são adicionados à dieta (BAUMAN e GRIINARI, 2001). O teor de FDN das dietas experimentais utilizadas no presente estudo variou entre 27,3 e 29,1% na MS, o que está próximo dos níveis mínimos recomendados pelo NRC (2001). No entanto, quase 1/3 da FDN da dieta foi fornecida por palma forrageira, uma fonte de FDN de baixa efetividade física (CONCEIÇÃO et al., 2016). Assim, a dieta basal fornecida em nosso estudo pode ter sido incapaz de promover ruminação suficiente para manter o pH ruminal dentro dos níveis normais, resultando em alterações nas vias de BH ruminal e permitindo maior escoamento ruminal de certos intermediários com potencial para induzir a DGL (Capítulo 2).

Em contraste, Abdelqader et al. (2009a) não encontraram alterações no teor de gordura do leite de vacas alimentadas com uma dieta basal de silagem de milho/feno de alfafa suplementada com 7 e 14% (base MS) com gérmen de milho obtido por intermédio de moagem a seco, mas o teor de gordura do leite caiu 0,42 unidades percentuais quando o gérmen de milho foi adicionado a 21% na MS. No processo de moagem a seco do milho, a separação dos principais componentes não é tão completa quanto na moagem úmida, pois pequenas quantidades de pericarpo e endosperma permanecem aderidas ao germe (RAUSCH e BELYEA, 2006), resultando em um coproduto que contém menos gordura (20-25% MS) do que o GIMEX. Além disso, a gordura presente no gérmen de milho obtido pelo processo de moagem a seco parece estar relativamente protegida no rúmen,

quando comparada com a gordura presente em outros coprodutos do milho, como grãos secos de destilaria com solúveis (ABDELQADER et al., 2009b).

Miller et al. (2009) observaram uma redução no teor de gordura do leite de vacas alimentadas com 1,6% de gordura suplementar de GIMEX, em comparação com quantidades equivalentes de lipídios do caroço de algodão e em relação à dieta controle (sem suplemento lipídico), sugerindo que os lipídios no GIMEX são mais disponíveis para BH ruminal do que os presentes no gérmen de milho obtido pelo processo de moagem a seco. No entanto, na literatura consultada nenhum estudo foi realizado comparando diretamente a proteção ruminal dos lipídios presentes no gérmen de milho obtido a partir de processos de moagem a seco e úmido, o que merece uma investigação mais aprofundada.

No geral, as concentrações de lactose do leite são muito menos afetadas por mudanças na dieta do que os teores de gordura e proteína, o que está de acordo com os achados no presente trabalho e com os de muitos outros estudos, em que as vacas foram alimentadas com dietas suplementadas com gordura (COSTA et al., 2019; APRIANITA et al., 2014; BENCHAAAR et al., 2012; CRUZ-HERNANDEZ et al., 2007). Por outro lado, os efeitos da gordura na dieta sobre o teor de proteína do leite de vacas leiteiras têm sido inconsistentes, com alguns autores relatando aumento (LOPES et al., 2019), outros sem alteração (SOUZA et al., 2019), e alguns relatando redução (ALZAHAL et al., 2008).

Nenhuma diferença no teor de proteína do leite também foi relatada por Abdelqader et al. (2009b), quando as vacas foram alimentadas com gérmen de milho obtido pelo processo de moagem a seco ou quantidades equivalentes de gordura de grãos secos de destilaria com solúveis, óleo de milho ou gordura protegida. Além das diferenças no processo de moagem utilizado para produzir os dois tipos de gérmen de milho, essas respostas inconsistentes da composição do leite também podem ser atribuídas a diferenças na dieta basal à qual o gérmen de milho foi adicionado. No presente estudo, a associação da palma forrageira com a cana-de-açúcar provavelmente favoreceu a síntese proteica microbiana devido à grande oferta de carboidratos não fibrosos (açúcares, amido, pectina e mucilagem) de ambas as fontes de forragens, o que pode ter permitido às vacas secretar leite com níveis normais de proteína, mesmo com altos níveis de GIMEX.

Apesar dos resultados observados, se for levado em conta sistemas de pagamento em que não há bonificação pelos constituintes do leite e apenas o nível mínimo de gordura de 3% preconizada pela Instrução Normativa (IN) N°76 de novembro de 2018 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), poderia recomendar a

inclusão de 5,2% do GIMEX em substituição ao fubá de milho, o que acarretaria em uma produção de 25,27 kg de leite/dia com 3% de gordura.

4. CONCLUSÃO

Não se recomenda a inclusão de GIMEX em substituição ao fubá de milho em dietas para vacas em lactação contendo palma forrageira (34%) e cana-de-açúcar (32%), em função da redução no consumo dos nutrientes e teor de gordura do leite, além da produção de leite corrigida para gordura. Porém, em sistemas de pagamento em que não há bonificação pelos constituintes do leite e apenas o nível mínimo de gordura de 3%, recomenda-se a inclusão em até 5,2% do GIMEX em substituição ao fubá de milho.

5. REFERÊNCIAS

ABDELQADER, M.M. et al. Evaluation of corn germ from ethanol production as an alternative fat source in dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.1023-1037, 2009a. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1207>

ABDELQADER, M.M. et al. Isolipidic additions of fat from corn germ, corn distillers grains, or corn oil in dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.5523-5533, 2009b. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1867>.

ALZAHAL, O. et al. Effects of monensin and dietary soybean oil on milk fat percentage and milk fatty acid profile in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.1166-1174, 2008. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0232>

AOAC, 1995. Official methods of analysis (16th edn). AOAC International.

AOAC, 2005. Official methods of analysis (18th edn). AOAC International.

AOAC, 2012. Official Method 989.05. Fat in milk. Modified Mojonnier ether extraction method. Official Methods of Analysis of AOAC International (19th edn). AOAC International.

APRIANITA, A. et al. Effects of dietary cottonseed oil and tannin supplements on protein and fatty acid composition of bovine milk. **Journal Dairy Research**, v.81, p.183-192, 2014. <https://doi.org/10.1017/S0022029914000065>

BAUMAN, D.E., Griinari, J.M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: Low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v.70, p.15-29, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00195-6](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00195-6)

BAUMAN, D.E., HARVATINE, K.J., LOCK, A.L. Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. **Annual Rev. Nutr**, v.3, p.299-319, 2011. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.012809.104648>

BENCHAAR, C. et al. Linseed oil supplementation to dairy cows fed diets based on red clover silage or corn silage: Effects on methane production, rumen fermentation, nutrient digestibility, N balance, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.7993-8008, 2015. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9398>.

BOERMAN, J.P. et al. Intestinal digestibility of long-chain fatty acids in lactating dairy cows: A meta-analysis and meta-regression. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.8889-8903, 2015. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9592>.

BOERMAN, J.P., LOCK, A.L. Effect of unsaturated fatty acids and triglycerides from soybeans on milk fat synthesis and biohydrogenation intermediates in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.7031-7042, 2014. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-7966>

CHEN, X.B., GOMES, M.J. Estimation of Microbial Protein Supply to Sheep and Cattle Based on Urinary Excretion of Purine derivatives- an overview of Technical Details. International Feed Research Unit. Rowett Research Institute, Aberdeen, UK, 1992.

CHIZZOTTI, M.L. et al.. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, v.113, p.218-225, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.03.013>.

COLLIER, R.J. et al. Heat stress: physiology of acclimation and adaptation. **Animal Frontiers**, v.9, p.12-19, 2019. <https://doi.org/10.1093/af/vfy031>

CONCEIÇÃO, M.G. et al. Replacement of wheat bran with spineless cactus in sugarcane-based diets for steers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.45, p.158-164, 2016. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902016000400003>

COSTA, A. et al. Invited review: Milk lactose-Current status and future challenges in dairy cattle. **Journal of dairy science**. v.102, p.5883-5898, 2019. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15955>

CRUZ-HERNANDEZ, C. et al. 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. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.3786-3801, 2007. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-698>

DETMANN, E. et al. SOUZA, MA., VALADARES FILHO, SC., Métodos para análise de alimentos. Visconde do Rio Branco: Universidade Federal de Viçosa, 2012. 214p.
DETMANN E., VALADARES FILHO SC. The estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, p.980-984, 2010. doi: 10.1590/S0102-09352010000400030.

DOREAU, M., FERLAY, A. Effect of dietary lipids on nitrogen metabolism in the rumen: A review **Livest. Production Science**, v.43, p.97-110, 1995. [https://doi.org/10.1016/0301-6226\(95\)00041-I](https://doi.org/10.1016/0301-6226(95)00041-I)

FARIAS, I. et al. Manejo de colheita e espaçamento da palma forrageira, em consórcio com sorgo granífero no Agreste de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.341-347, 2000. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2000000200013>

FERREIRA, M.A. et al. Utilização da Palma Forrageira na Alimentação de Bovinos Leiteiros. In: Mércia Virginia Ferreira dos Santos; Francisco Fernando Ramos de Carvalho; Marcelo de Andrade Ferreira. (Org.). Palma forrageira: potencial e perspectivas. 1ed.Recife: Suprema Grafica, 2020, v. 1, p. 255-296.

GALEANO, V.J.L et al. Productive responses of dairy goats fed on diets containing elephant grass (*Pennisetum purpureum*) associated or not with cactus (*Opuntia stricta*) cladodes, and extra-fat whole corn germ as a substitute for corn. **Small Ruminant Research**, v.207, 106609, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106609>

GONZÁLEZ-ROQUILLO, M. et al. Purine derivative excretion in dairy cows: endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal Dairy Science**, v.86, p.1282-1291, 2003. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73712](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73712)

HALL, M.B. Neutral detergent-soluble carbohydrates. Nutritional relevance and analysis: University of Florida, 2000.

HARVATINE K.J., ALLEN M.S. The effect of production level on feed intake, milk yield, and endocrine responses to two fatty acid supplements in lactating cows. **Journal Dairy Science**, v.88, p.4018-4027, 2005. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)730](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)730)

88-5.

HARVATINE K.J., ALLEN M.S. Effects of fatty acid supplements on milk yield and energy balance of lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.89, p.1081-109, 2006. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72176-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72176-2)

HONING VAN DER, Y. et al. Further studies on the effect of fat supplementation of concentrates fed to lactating dairy cows. II. Total digestion and energy utilization. **Journal Agric. Science**, v.31, p.27-36, 1983. <https://doi.org/10.18174/njas.v31i1.16959>

INÁCIO, J.G. et al. Nutritional and performance viability of cactus *Opuntia*-based diets added to concentrate levels for Girolando lactating dairy cows. **Asian-Australasian Journal Animal Science**, v.33, n.1, p.35-43, 2020. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0916>

ISO 9622/IDF 141. Milk and liquid milk products - Guidelines for the 706 application of mid-infrared spectrometry, 2013

JENKINS, T.C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal Dairy Science**. v.76, p.3851-3863, 1993. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77727-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77727-9)

JENKINS, T.C. HARVATINE, K.J. Lipid feeding and milk fat depression. **Vet Clinics: Food Anim. Prac.** v.30, p.623-642, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2014.07.006>

KRIZSAN, S.J., HUHTANEN, P. Effect of diet composition and incubation time on feed indigestible neutral detergent fiber concentration in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 3, p. 1715-1726, 2013. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5752>

KÖPPEN, W.,. Climatology: Earth climate studies. México: Fondo de Cultura Economica, 1948. pp. 478.

LICITRA, G. et al. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, p.347-358, 1996. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00837-3](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00837-3).

LOPES, F.C.F. et al. Butter fatty acid composition as a function of soybean oil supplementation and time of milking, and performance of Holstein x Gyr cows fed with chopped elephant grass-based diets. **Semina: Ciências Agrárias**, v.40, p.2027-2044, 2019. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n5p2027>

MAO, HL. et al. Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. **Livestock Science**, v.129, p.56-62, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.12.011>

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa N° 76. Diário Oficial da União, Brasília , 20 dezembro de 2018, Seção1.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**. v.85, p.1217-1240, 2002. <https://doi.org/10.1093/jaoac/85.6.1217>

MILLER, W.F. et al. 2009. Comparison of full-fat corn germ, whole cottonseed, and tallow as fat sources for lactating dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v.92, p.3386–3391. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2118>.

MORAES, G.S.O. et al. Cactus [*Opuntia stricta* (Haw.) Haw] cladodes and corn silage: How do we maximize the performance of lactating dairy cows reared in semiarid regions? **Livestock Science**, v.221, p.133-138, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.01.026>

National Research Council, 2001. Nutrients Requirements of the Dairy Cattle. In: Washington, D.C. (Ed.), Nutrients Requirements of the Dairy Cattle, seventh ed. Nacional Academies of science.

PALMQUIST, D.L. Use of fats in diets for lactating dairy cowsJ. Wiseman (Ed.), Proc. 37th Easter School in Agriculture, Butterworth, London, UK (1983), pp. 357-381.

PALMQUIST, D.L. Milk Fat: Origin of Fatty Acids and Influence of Nutritional Factors Thereon. In: Fox P.F., McSweeney P.L.H. (eds) Advanced Dairy Chemistry Vol. 2 **Lipids**, 2006.. https://doi.org/10.1007/0-387-28813-9_2

PALMQUIST, D.L. JENKINS, T.C. A 100-Year Review: Fat feeding of dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.100, p.10061-10077, , 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12924>.

PALMQUIST, D.L., JENKINS, T.C. Challenges with fats and fatty acid methods. **Journal Dairy Science**, v.81, p.3250-3254, 2003. <https://doi.org/10.2527/2003.8112325>

0x

PAULA, T.A. et al. Concentrate levels associated with a new genotype of cactus (*Opuntia stricta* [Haw]. Haw.) cladodes in the diet of lactating dairy cows in a semi-arid region. **The Journal of Agricultural Science**, v.156, p.1251-1258, 2019. <https://doi.org/10.1017/S002185961900011X>

RABIEE, A.R. et al. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: a meta analysis and meta-regression. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.3225-3247, 2012. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4895>.

RAUSCH, K.D. BELYEA, R.L. The future of coproducts from corn processing. **Appl Biochem Biotechnol**, v.128, p.47-86, 2006. <https://doi.org/10.1385/ABAB:128:1:047>

SAS Institute Inc., 2014. SAS/STAT® 13.2 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.

SANTOS, R.D. et al. Divergence in nutrient concentration, in vitro degradation and gas production potential of spineless cactus genotypes selected for insect resistance. **Journal of Agricultural Science**, v.156, p.450-456, 2018. <https://doi:10.1017/S002185961800031X>

SKLAN, D. et al. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal Dairy Science**, v.75, p.2463-2472, 1992. <https://doi.org/10.3168>

/jds.S0022-0302 (92) 78008-4.

SOUZA, S.M. et al. Milk fatty acid composition of Holstein x Gyr dairy cows fed sugarcane-based diets containing citrus pulp supplemented with sunflower oil. **Ciências Agrárias**, v.40, p.1663-1680, 2019. <https://doi:10.5433/1679-0359.2019v40n4p1663>

SUKHIJA, P.S., PALMQUIST, D.L. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. **Journal Agric. Food Chem**, v.36, p.1202-1206, 1988. <https://doi.org/10.1021/jf00084a019>

TORADO, M. et al.. Prickly Pear By-Product in the Feeding of Livestock Ruminants: Preliminary Investigation. **Animals**, v.10, p.49, 2020. [Dhttps://doi:10.3390/ani10060949](https://doi:10.3390/ani10060949)

TORRES, L.C.L. et al. Substituição da palma-gigante por palma-miúda em dietas para bovinos em crescimento e avaliação de indicadores internos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p. 2264–2269, 2009. <https://doi.org/10.1590/S1516-359820090011000>

28.

VERBIC, J. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **J. Agric Sci**, v.114, p.243-248, 1990. <https://doi.org/10.1017/S0021859600072610>.

WEISS, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds. Proceedings of the 61th Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers; Ithaca, NY, USA: Cornell University; pp. 176-85, 1999

CAPÍTULO 2

Perfil de ácidos graxos do leite de vacas recebendo diferentes níveis de gérmen integral de milho extra gordo em dieta contendo palma forrageira e cana-de-açúcar como fontes de volumoso

Resumo: Evidências recentes indicam que associar palma forrageira (*Opuntia stricta*) óleos vegetais representa uma estratégia promissora para aumentar o valor nutricional da gordura do leite. Este estudo teve como objetivo investigar os efeitos do germen integral de milho extra gordo (GIMEX), como alternativa aos óleos vegetais, sobre metabólitos sanguíneos e composição de ácidos graxos (AG) do leite de vacas leiteiras alimentadas com dieta basal contendo palma forrageira (*Opuntia stricta*) e cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) como forrageiras. Dez vacas da raça Holandês com 90 ± 10 dias de lactação e produção de $24,2 \pm 3,5$ kg de leite/dia foram distribuídas em tratamentos dietéticos que consistiram de níveis crescentes de GIMEX (0; 4; 8; 12; e 16%) com base na matéria seca (MS) em um delineamento Quadrado Latino 5 x 5 replicado com períodos de 21 dias. Os níveis de colesterol sérico aumentaram acentuadamente de 756 para 1,480 mg/L, mas outros metabólitos sanguíneos não foram alterados com a inclusão do GIMEX. Com exceção dos isômeros *trans*-16:1, as proporções de ácidos graxos de cadeia curta e média na gordura do leite diminuíram de forma linear ou quadrática com a inclusão do GIMEX, enquanto o oposto foi observado para os isômeros 18:0 e de 18:1/18:2, incluindo aqueles com ligações duplas conjugadas. Em particular, ocorreu uma mudança de *trans*-11 para *trans*-10 com a inclusão do GIMEX, resultando em uma mudança quadrática em *trans*-11 18:1 e *cis*-9, *trans*-11 CLA e um aumento linear em *trans*-10 18:1, *trans*-10, *cis*-12 CLA e *trans*-9, *cis*-11 CLA. As proporções de ácidos graxos lineares ímpares e de cadeia ramificada na gordura do leite diminuíram de forma quadrática e linear, respectivamente, com a inclusão do GIMEX. Esses resultados indicam que o GIMEX pode ser uma fonte eficaz de gordura para aumentar o fluxo ruminal de intermediários de biohidrogenação em vacas alimentadas com palma forrageira (*Opuntia stricta*) como substituto parcial da cana-de-açúcar.

Palavras-chave: composição da gordura do leite, coproduto, forragem tropical, saúde humana, suplemento lipídico.

Abstract: Recent evidence indicates that associating forage cactus (*Opuntia stricta*) with vegetable oils represents a promising strategy to increase the nutritional value of milk fat. This study aimed to investigate the effects of extra-fatty whole corn germ (EFWCG), as an alternative to vegetable oils, on blood metabolites variables and fatty acid (FA) composition of milk from dairy cows fed a basal diet containing forage cactus (*Opuntia stricta*) and sugarcane as forage. Ten Holstein cows with 90 ± 10 days of lactation and production of 24.2 ± 3.5 kg of milk/day were assigned to dietary treatments that consisted of increasing levels of EFWCG (0; 4; 8; 12; and 16 %) based on dry matter (DM) in a 5 x 5 Latin square design replicated with periods of 21 days. Serum cholesterol levels increased markedly from 756 to 1,480 mg/L, but other blood metabolites were not changed with the inclusion of EFWCG. With the exception of the trans-16:1 isomers, the proportions of short- and medium-chain fatty acids in milk fat decreased linearly or quadratically with the inclusion of EFWCG, while the opposite was observed for the 18:0 and 18:1/18:2 isomers, including those with conjugated double bonds. In particular, a shift from *trans*-11 to *trans*-10 occurred with the inclusion of EFWCG, resulting in a quadratic shift in *trans*-11 18:1 and *cis*-9, *trans*-11 CLA and a linear increase in *trans*-10 18 :1, *trans*-10, *cis*-12 CLA and *trans*-9, *cis*-11 CLA. The n-6:n-3 ratio in milk almost doubled with the inclusion of EFWCG, mainly due to a pronounced increase in 18:2 n-6. The proportions of odd linear and branched-chain fatty acids in milk fat decreased quadratically and linearly, respectively, with the inclusion of EFWCG. These results indicate that EFWCG can be an effective source of fat to increase the rumen flow of biohydrogenation intermediates in cows fed forage cactus (*Opuntia*) as a partial substitute for sugarcane.

Keywords: Cactus *Opuntia*, milk fat composition, co-product, tropical forage, human health, lipid supplement.

1. INTRODUÇÃO

Devido às preocupações com a saúde de humanos associadas à alta ingestão de gorduras saturadas, grandes esforços foram feitos nas últimas décadas para alterar a composição de ácidos graxos (AG) do leite e produtos lácteos, a fim de torná-los mais alinhados às diretrizes alimentares (PARODI, 2016). A alimentação com pastagens e a suplementação da dieta de vacas leiteiras com lipídios vegetais (na forma de óleo ou oleaginosas) são as estratégias mais comuns para atingir esse objetivo.

Além de diminuir as proporções de ácidos graxos saturados (AGS) na gordura do leite, essas estratégias de alimentação também aumentam as proporções de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) como *cis*-9, *trans*-11 CLA (COLLOMB et al., 2006), um isômero do ácido linoleico conjugado (CLA) que exibe uma série de propriedades potencialmente benéficas à saúde em modelos animais, embora as evidências de estudos em humanos sejam mais limitadas e os resultados sejam menos consistentes (DEN HARTIGH, 2019; FUKU e NORBERG, 2017; YANG et al., 2015).

O CLA *cis*-9, *trans*-11 secretado no leite é principalmente derivado da dessaturação endógena do *trans*-11 18:1, o principal intermediário da biohidrogenação ruminal (BH) tanto do linoleico (18:2 n-6) quanto do ácido α -linolênico (18:3 n-3) na maioria das condições dietéticas (CHILLIARD et al., 2007). Assim, é desejável que a suplementação com óleos vegetais em dietas para vacas leiteiras aumente o fluxo ruminal de *trans*-11 18:1 para a glândula mamária, onde a maior parte será convertida em *cis*-9, *trans*-11 CLA pela Enzima Esteroil-CoA desaturase-1 (KLIEM e SHINGFELD, 2016).

Os coprodutos agroindustriais podem ser fontes de gordura menos onerosas e viáveis na dieta do que óleos vegetais e oleaginosas, uma vez que os óleos vegetais são líquidos e as oleaginosas em sua maioria precisam ser processadas (por exemplo, extrusadas) antes do fornecimento. O gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX) é um coproduto derivado da moagem úmida do milho, processo no qual o gérmen é separado por densidade. Este processo resulta em um coproduto rico em gordura com 18:2 n-6 e *cis*-9 18:1 sendo o AG predominante. A suplementação de GIMEX na dieta demonstrou aumentar as proporções de *trans*-11 18:1 e *cis*-9, *trans*-11 CLA na gordura do leite de vacas quando comparadas com quantidades equivalentes de gordura derivada do caroço de algodão ou sebo (MILLER et al., 2009), indicando o potencial do GIMEX como fonte alternativa de gordura na dieta para melhorar a composição de AG do leite.

Como observado para óleos vegetais ricos em AGPI, alguns polifenóis vegetais também demonstraram modular a BH ruminal de forma a favorecer o acúmulo de

intermediários da BH, como o *trans*-11 18:1 (VASTA et al., 2019), embora os efeitos observados pareçam variar de acordo com a fonte e a quantidade de polifenóis adicionados à dieta.

Recentemente, foi relatado que a substituição parcial da silagem de sorgo por palma forrageira (*Opuntia stricta* [Haw]. Haw) em uma dieta suplementada com óleo de soja aumentou marcadamente as proporções de *trans*-11 18:1 e *cis*-9, *trans*-11 CLA no leite de vaca, um efeito que parece ser devido à inibição dos compostos fenólicos encontrados na palma na última etapa de BH ruminal (GAMA et al., 2020).

Para explorar ainda mais esses resultados promissores, objetivou-se investigar os efeitos do aumento dos níveis de GIMEX, como uma alternativa aos óleos vegetais, sobre metabólitos sanguíneos e composição de AG do leite de vacas leiteiras alimentadas com uma dieta basal contendo palma forrageira (*Opuntia stricta* [Haw]. Haw) e cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) como fontes forrageiras. Foi hipotetizado que o GIMEX poderia ser uma fonte mais barata e viável de gordura na dieta do que os óleos vegetais para produção de leite enriquecido com CLA em vacas leiteiras.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Cuidados com animais e local do experimento

Os procedimentos com os animais foram realizados de acordo com as orientações da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Licença nº 143/2019).

O experimento foi conduzido na Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), localizado no município de São Bento do Una-PE, cujo clima é classificado como semiárido quente (BWh), segundo o sistema de classificação de Köppen (1948). São Bento do Una está situado na latitude 08°31'22" S e longitude 36°06'40" W, com precipitação média anual de 655 mm e temperatura média de 23,8°C (FARIAS et al., 2000).

2.2 Animais, design experimental e dietas

Foram utilizadas dez vacas da raça Holandês, pesando 511 ± 15 kg, com 90 ± 10 dias de lactação e produzindo $24,2 \pm 3,5$ kg de leite/dia. Antes do período experimental, todos os animais foram adaptados às instalações e práticas de manejo por três semanas, durante as quais uma dieta padrão composta por de cana-de-açúcar, palma forrageira (*Opuntia stricta*) e um concentrado comercial foi fornecida *ad libitum*. Posteriormente as vacas foram distribuídas aleatoriamente em cinco dietas experimentais em um delineamento

quadrado Latino 5×5 replicado com períodos experimentais de 21 dias (14 dias para adaptação às dietas e os últimos sete dias para amostragem e coleta de dados).

Os animais foram alojados em baias individuais, medindo (24m²), com piso de concreto (parte coberta com cocho individual) e terra batida com cama de areia, sendo separadas entre si por cercas de madeira, providas de comedouros e bebedouros. Na área de terra batida, para melhor conforto das vacas, foi utilizado sombrite de 80 “mesh”.

As dietas experimentais consistiram de níveis crescentes do GIMEX (0, 4, 8, 12 e 16%) com base na matéria seca (MS). Todas as dietas continham proporções semelhantes de palma forrageira (*Opuntia stricta* [Haw]. Haw), cana-de-açúcar e concentrado (32:34:34, respectivamente), mas o fubá de milho foi gradualmente substituído (0, 25, 50, 75 e 100%) pelo GIMEX no concentrado. As forragens utilizadas foram processadas diariamente em máquina forrageira e foram fornecidos frescos e picados. O GIMEX foi obtido pela moagem úmida do milho, onde o gérmen é separado por densidade, resultando em um coproduto com alto teor de gordura e alta estabilidade oxidativa (Ingredion™). As composições químicas das forragens e dos concentrados utilizados nas dietas estão apresentadas na Tabela 1, enquanto as proporções dos ingredientes e composição química das dietas são apresentadas na Tabela 2.

As dietas foram formuladas de acordo com as recomendações do NRC (2001) para atender às necessidades nutricionais de vacas leiteiras com produção de 25 kg de leite/dia, com 3,5% de gordura, e foram fornecidas *ad libitum*, na forma de mistura completa, duas vezes ao dia após a ordenha da manhã e da tarde, com ajuste diário que permitiu 8,02 ±1,62% das sobras do total de MS fornecido.

Tabela 1. Composição química (g/kg MS, salvo indicação ao contrário) dos ingredientes da ração utilizados nas dietas experimentais

Item	Cana de açúcar	POEM ^a	Farelo soja	GIMEX ^b	Fubá de milho
Matéria seca ^c	275	126	897	949	902
Matéria orgânica	969	880	880	980	984
Proteína bruta	21,5	49,8	480	100	90
Extrato etéreo	5,26	14,6	32,6	490	32
Fibra em detergente neutro ^d	450	257	133	247	135
Amido	43	167	58,9	5,8	709
Carboidratos não fibrosos ^e	491	555	296	130	727
Ácidos graxos totais (AG)	2,7	14,2	25,9	485,1	43,1
AG (% do total de AG)					
14:0	nd ^f	1,04	0,27	0,04	0,09
16:0	31,2	24,2	21,8	13,2	18,2
18:0	9,61	3,73	2,4	2,18	1,42
18:1 n-9	16,7	3,12	12,2	34,3	26,4
18:2 n-6	33,3	30,0	56,9	47,4	50,7
18:3 n-3	6,19	33,8	4,48	0,90	1,89

^a Palma Orelha de Elefante Mexicana

^b Gérmen integral de milho extra gordo

^c g/kg baseado na matéria natural.

^d FDN testado com amilase estável ao calor e corrigido para cinzas e compostos nitrogenados

^e Calculado conforme descrito por Hall (2000).

^f Não detectado

Tabela 2. Proporção de ingredientes e composição química (g/kg MS) das dietas experimentais

Item	Níveis de inclusão do GIMEX (% MS)				
	0	4	8	12	16
Ingredientes					
Cana-de-açúcar	320	320	320	320	320
Palma forrageira	340	340	340	340	340
Farelo de soja	147	148	149	150	151
Fubá de milho	160	120	80	40	-
Gérmen extra gordo (GIMEX)	-	40	80	120	160
Ureia+Sulfato de amônia ^a	13	12	11	10	9
Premix ^b	15	15	15	15	15
Sal	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Composição química					
Matéria seca	236	236	234	237	236
Matéria orgânica	918	917	917	917	917
Proteína bruta	143	141	140	139	137
Extrato etéreo	16,6	34,7	53,1	71,7	89,8
Fibra em detergente neutro ^c	273	278	282	286	291
Amido ^d	193	165	136	108	80
Carboidratos não fibrosos ^e	442	421	400	379	358
Energia líquida, Mcal/kg MS ^f	1,65	1,63	1,72	1,75	1,73
Ácidos graxos					
C16:0	3,49	5,72	7,98	10,3	12,5
C18:0	0,45	0,85	1,24	1,64	2,03
C18:1 n-9	2,57	8,72	14,9	21,2	27,3
C18:2 n-6	7,38	15,6	24,0	32,4	40,7
C18:3 n-3	1,99	2,13	2,28	2,42	2,57

^a proporção de 9:1 em matéria natural.

^bSuplemento comercial contendo os seguintes minerais e vitaminas (por kg): 205 g Ca, 60 g P, 15 mg Co, 700 mg Cu, 10 mg Cr, 700 mg Fe, 40 mg I, 1.600 mg Mn, 19 mg Se, 2.500 mg Zn, 600 mg F, 400.000 UI de vitamina A, 2.400 UI de vitamina E e 1.000 mg de monensina.

^c FDN testado com uma amilase estável ao calor e corrigido para cinzas e compostos nitrogenados.

^d Valores calculados usando o teor de amido de ingredientes individuais da ração e suas proporções nas dietas.

^e Calculado conforme descrito por Hall (2000).

^f Calculado de acordo com o NRC (2001).

2.3 Coleta de dados e amostras

Do 15° ao 21° dias de cada período experimental, diária e individualmente, antes do fornecimento da ração pela manhã, foram coletadas amostras de palma e cana-de-açúcar, assim como as sobras dos alimentos fornecidos no dia anterior, formando-se amostras compostas individuais ao final de cada período experimental, que foram identificadas e armazenadas em freezer a -20°C para análises posteriores. O consumo voluntário dos nutrientes foi calculado pela diferença entre a quantidade de nutriente fornecido e quantidade presente nas sobras.

As vacas foram ordenhadas mecanicamente, duas vezes ao dia (06h00 e 15h00), e durante o 18° e 19° dias, foram coletadas amostras individuais de leite (manhã e tarde), de cada período experimental, fazendo-se amostras compostas, proporcionalmente à produção em cada sessão de ordenha. De cada amostra composta foi coletada uma alíquota de 15 mL de leite utilizando tubos Falcon sem conservantes e armazenados a -20°C para posteriores análises da composição dos ácidos graxos.

Amostras de sangue foram coletadas no último dia de cada período experimental, 4 horas após a alimentação matinal, por meio de venopunção da coccígea com agulhas 21Gx1” (BD Vacuteiner®, EUA). Tubos Vacuteiner® sem anticoagulante foram usados para as determinações de colesterol total, proteínas totais, albumina e ureia, enquanto tubos com fluoreto de sódio e oxalato de potássio foram usados para análise da concentração plasmática de glicose.

As amostras foram imediatamente centrifugadas (3.000 g por 15 min) e armazenadas em ultracongelador (Ultralow freezer NuAire Inc., 2100 Fernbrook Lane N. Plymouth, MN 55447, EUA) a -80°C até a análise.

2.4 Procedimentos analíticos

Amostras de alimentos e sobras coletados ao longo do estudo foram descongeladas, pré-secas a 55°C por 72h em estufa de ventilação forçada, moídas em moinho de facas (Modelo Thomas Wiley Co., Swedesboro, NJ) equipado com peneira com 1 mm de diâmetro, e analisado para MS (método 934,01), matéria orgânica (MO, método 930,05), cinzas (método 942,05), proteína bruta (PB, método 968,06) e extrato de etéreo (EE, método 920,39), de acordo com AOAC (2005). O teor de amido dos ingredientes da ração foi determinado de acordo com o método 996.11 (AOAC, 1995), com modificações relatadas por Walter et al. (2005). A fibra em detergente neutro (FDN) foi determinada de acordo com Mertens (2002) usando uma alfa-amilase termoestável sem sulfito de sódio e corrigida para cinzas residuais. Os valores de FDN também foram corrigidos para

compostos nitrogenados conforme descrito por Licitra et al. (1996), e os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados de acordo com Hall (2000). Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados conforme descrito por Weiss (1999).

Um segundo conjunto de amostras de ingredientes da ração foi liofilizado (modelo L120, Liotop, Liobras, São Carlos, Brasil), moído em um moinho Wiley equipado com uma peneira com porosidade de 1 mm e analisado quanto à composição de AG de acordo com Sukhija e Palmquist (1988) com adaptações (PALMQUIST e JENKINS, 2003).

Os ésteres metílicos de AG (FAME) foram separados e quantificados usando um cromatógrafo a gás (Agilent 6890, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) equipado com uma coluna capilar (HP-FFAP, 25 m × 0,2 mm × 0,33 µm) e equipado com um detector de ionização de chama (FID). O ácido nonadecanóico (19:0, Nu-Chek Prep) foi usado como padrão interno para determinar o teor total de AG, e os picos individuais foram identificados com base na comparação do tempo de retenção com um padrão comercial (Supelco 37 Component FAME Mix). As condições de operação do GC foram descritas em detalhes por Gama et al. (2020).

Para determinar a composição de AG do leite, as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente, e um volume de 1 mL foi utilizado para extração de lipídios utilizando hidróxido de amônio, etanol, éter dietílico e hexano, de acordo com o Método Oficial AOAC 989.05 (AOAC, 2012). Os lipídios do leite extraídos foram dissolvidos em hexano e acetato de metila e transesterificados para (FAME) usando metóxido de sódio metanólico preparado na hora, conforme descrito em outros estudos (BALDIN et al., 2013). A mistura foi neutralizada com ácido oxálico (1 g de ácido oxálico em 30 ml de éter dietílico) e adicionou-se cloreto de cálcio para remover os resíduos de metanol. Os FAME foram separados e quantificados usando um cromatógrafo a gás (modelo 7820A, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA), equipado com um detector de ionização de chama, e com uma coluna capilar de sílica fundida CP-Sil 88 (100 m × 0,25 mm × 0,2 µm) espessura do filme; Varian, Mississauga, ON, Canadá).

As condições de operação foram as mesmas descritas por Gama et al. (2020). Os FAME foram identificados por comparação dos tempos de retenção com padrões comerciais (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EUA; Larodan AB, Estocolmo, Suécia; Luta-CLA® 60, BASF), enquanto *trans/cis*-18 menores: Isômeros 1 e *trans*-9, *cis*-11 CLA foram identificados de acordo com sua ordem de eluição relatada nas mesmas condições analíticas (CRUZ-HERNANDEZ et al., 2007).

A composição de AG do leite foi expressa como uma proporção de AG total usando fatores de resposta teóricos (WOLFF et al., 1995). Índices de estearoil-CoA dessaturase-1 (SCD1) foram calculados para os principais pares de produtos e substratos desta enzima (*cis*-9 14:1/14:0, *cis*-9 16:1/16:0, *cis*-9 18 :1/18:0 e RA/*trans*-11 18:1) como descrito por Kelsey et al. (2003).

As concentrações dos metabólitos sanguíneos foram determinadas por métodos enzimático colorimétricos utilizando kits comerciais (Labtest®), sendo as absorbâncias medidas em analisador bioquímico semiautomático (Labtest Diagnóstica SA, Av. Paulo Ferreira da Costa 600, Lagoa Santa, MG 33400-000, Brasil). Essas análises foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados usando o PROC MIXED do pacote estatístico SAS (Versão 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA) de acordo com o Quadrado Latino 5 × 5 balanceado para efeitos residuais, usando o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + Q_j + P_k + (A / Q)_{lj} + (T \times Q)_{ij} + \varepsilon_{ijkl}$$

Onde: Y_{ijkl} = variável dependente; μ = média geral; T_i = efeito fixo do tratamento i ; Q_j = efeito fixo do quadrado j ; P_k = efeito aleatório do período k ; $(A/Q)_{lj}$ = efeito aleatório do animal l no quadrado j ; $T \times Q_{ij}$, = efeito da interação tratamento i e o quadrado j ; ε_{ijkl} = erro residual aleatório.

Os efeitos lineares e quadráticos do aumento dos níveis de GIMEX na dieta foram testados por contrastes polinomiais ortogonais para tratamentos igualmente espaçados. As diferenças foram declaradas estatisticamente significativas em $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inclusão de GIMEX nas dietas aumentou linearmente ($P < 0,01$) as concentrações séricas de colesterol total, com vacas alimentadas com 16% de GIMEX exibindo níveis de colesterol duas vezes maiores do que aquelas alimentadas com 0% de GIMEX. Por outro lado, as concentrações plasmáticas de glicose, triglicerídeos, albumina, proteínas totais e ureia não foram alteradas ($P \geq 0,07$) pela inclusão de GIMEX (Tabela 3).

Tabela 3. Concentrações de metabólitos sanguíneos (mg/L) em vacas alimentadas com níveis crescentes de gérmen de milho integral (GIMEX)

Item	Níveis de GIMEX (%MS)					EPM ^a	P-valor ^b	
	0	4	8	12	16		L	Q
Glicose	567	545	548	543	560	7,07	0,159	0,45
Colesterol	756	963	1311	1475	1480	53,7	<0,01	0,73
Triglicerídeos	55	59	76	67	71	4,61	0,07	0,28
Albumina	26	25	26	26	26	0,37	0,17	0,36
Proteínas totais	71	70	71	72	70	0,02	0,21	0,18
Ureia	375	374	362	335	344	11,2	0,06	0,39

^aErro padrão da média

^b Contrastes polinomiais ortogonais testando as respostas linear (L) e quadrática (Q) ao aumento dos níveis de GIMEX nas dietas.

A inclusão de GIMEX na dieta teve efeitos marcantes nas proporções da maior parte dos AG na gordura do leite (Tabelas 4 e 5). Com exceção dos isômeros *trans*-16:1, as proporções de AG de cadeia curta e média (< 18C) diminuíram (a maioria deles de forma linear, $P < 0,01$) à medida que o GIMEX aumentou na dieta. Foi observada uma diminuição quadrática nas proporções de 7:0, 9:0, 10:0, 11:0, 12:0, *cis*-9 12:1+13:0, 15:0 e 16:0, cujos declínios mais acentuados ocorreram quando os níveis de GIMEX na dieta aumentaram de 0 para 8%. Por outro lado, a proporção do total de AG C18 na gordura do leite aumentou 22,7 unidades percentuais em vacas alimentadas com 8%, seguido por um ligeiro aumento (6,2 unidades percentuais) à medida que o nível de GIMEX aumentaram para 16% (efeito quadrático, $P = 0,02$). A proporção de 18:0 aumentou de 5,13 para 10,1 g/100g de AG total quando os níveis de GIMEX aumentaram de 0 a 8%, respectivamente, e depois permaneceram bastante estáveis com níveis mais altos de GIMEX.

Com exceção do *trans*-11 C18:1, as proporções dos outros isômeros 18:1 aumentaram de forma linear ou quadrática ($P < 0,01$) com a inclusão de GIMEX na dieta. A proporção *trans*-10 18:1 para *trans*-11 18:1 na gordura do leite aumentou linearmente ($P < 0,01$) de 0,69 para 3,97 com a inclusão do GIMEX, com valores maiores que 1 sendo observados a partir de 8% de inclusão do GIMEX. Como observado para *trans*-10 18:1, as proporções de *trans*-10, *cis*-12 CLA e *trans*-9, *cis*-11 CLA também aumentaram linearmente ($P < 0,01$) em resposta a inclusão do GIMEX. Por outro lado, houve um comportamento quadrático nas concentrações de *trans*-11 18:1 (máximo de 2,51g/100g

de AG total, estimado com 9,17% de GIMEX) e *cis*-9, *trans*-11 CLA (máximo de 1,31g/100g de AG total, estimado com 8,88% de GIMEX).

A proporção de 18:2 n-6 na gordura do leite aumentou linearmente (de 2,81 para 3,88 g/100g de AG total, $P < 0,01$) à medida que os níveis de GIMEX aumentaram na dieta, enquanto 18:3 n-3 foi ligeiramente reduzido (efeito linear, $P = 0,01$). Como resultado, um aumento pronunciado na razão n-6:n-3 AG foi observado na gordura do leite de vacas alimentadas com níveis crescentes de GIMEX (efeito linear, $P < 0,01$). Proporções de AG de cadeia ímpar linear diferente de 21:0 e 23:0 (7:0, 9:0, 11:0, 15:0, 17:0 e *cis*-9 17:1) diminuíram quadraticamente ($P < 0,05$) à medida que o GIMEX aumentou na dieta, enquanto uma redução linear ($P < 0,01$) foi observada para a maioria dos ácidos graxos de cadeia ramificada (*iso* 14:0, *iso* 15:0, *anteiso* 15:0 e *iso* 16:0). Os efeitos sobre outros AG de cadeia ímpar e ramificados nesse estudo (13:0, *iso* 17:0 e *anteiso* 17:0) foram menos claros devido a sua coesão com outros AG, conforme indicado na Tabela 4.

Proporções diminuídas (efeito linear ou quadrático, $P < 0,05$) de AG n-6 (18:3 n-6, 20:2 n-6, 20:3 n-6, 20:4 n-6) e AG n-3 (20:5 n-3 e 22:5 n-3) foram observadas na gordura do leite de vacas alimentadas com GIMEX. Em contraste, as proporções de 20:0 e *cis*-9 20:1 aumentaram quadraticamente ($P = 0,01$) e linearmente ($P < 0,01$), respectivamente, à medida que os níveis de GIMEX aumentaram na dieta.

Tabela 4. Composição de ácidos graxos do leite (g/100g de AG total) de vacas alimentadas com níveis crescentes de gérmen integral de milho integral (GIMEX)

Item	Níveis de GIMEX (%MS)					EPM ^a	P-Valor ^b	
	0	4	8	12	16		L	Q
C4:0	3,07	2,99	2,5	1,96	1,44	0,140	<0,01	0,05
C5:0	0,04	0,03	0,02	0,03	0,02	0,004	<0,01	0,02
C6:0	2,10	1,86	1,36	1,02	0,73	0,120	<0,01	0,80
C7:0	0,32	0,02	0,02	0,02	0,02	0,005	<0,01	0,03
C8:0	1,33	1,12	0,66	0,56	0,44	0,073	<0,01	0,06
C9:0	0,05	0,03	0,01	0,01	0,01	0,005	<0,01	<0,01
C10:0	3,03	2,37	1,51	1,09	0,76	0,170	<0,01	0,02
C11:0	0,14	0,08	0,04	0,03	0,02	0,011	<0,01	<0,01
C12:0	3,83	2,86	1,95	1,54	1,15	0,190	<0,01	0,02
C12:1 <i>cis</i> -9 ^c	0,28	0,17	0,11	0,08	0,06	0,018	<0,01	0,01
<i>iso</i> -C14:0	0,08	0,07	0,05	0,04	0,03	0,004	<0,01	0,38
C14:0	11,6	10,3	8,53	7,13	5,93	0,393	<0,01	0,63
C14:1 <i>cis</i> -9	1,29	1,02	0,86	0,68	0,64	0,074	<0,01	0,02
<i>iso</i> -C15:0	0,17	0,15	0,13	0,11	0,10	0,009	<0,01	0,30
<i>anteiso</i> -C15:0	0,49	0,46	0,41	0,32	0,28	0,017	<0,01	0,21
C15:0	1,62	1,10	0,84	0,76	0,70	0,100	<0,01	0,02
C16:0 <i>iso</i>	0,16	0,15	0,11	0,10	0,09	0,008	<0,01	0,62
C16:0	35,9	28,5	24,0	24,1	23,9	1,22	<0,01	<0,01
C16:1	0,19	0,21	0,22	0,22	0,20	0,014	0,12	0,04
C16:1 <i>cis</i> -7	0,42	0,45	0,49	0,43	0,43	0,044	0,90	0,12
C16:1 <i>trans</i> -9 ^d	0,42	0,44	0,49	0,43	0,42	0,044	0,90	0,11
C16:1 <i>cis</i> -9 ^e	2,37	1,79	1,55	1,53	1,79	0,135	<0,01	<0,01
C17:0	0,74	0,55	0,47	0,43	0,44	0,040	<0,01	0,04
C17:1 <i>cis</i> -9	0,28	0,21	0,18	0,16	0,21	0,021	0,09	0,03
C18 AG ^f	26,8	39,4	49,5	53,2	55,7	2,06	<0,01	0,02
C20:0	0,09	0,14	0,14	0,17	0,16	0,009	<0,01	0,02
C20:1	0,06	0,07	0,08	0,09	0,11	0,008	<0,01	0,47
C20:2	0,03	0,04	0,03	0,03	0,02	0,003	0,04	0,33
C20:3	0,10	0,11	0,08	0,06	0,06	0,006	<0,01	0,58
C20:4	0,23	0,19	0,14	0,11	0,11	0,012	<0,01	0,03
C20:5	0,01	0,01	0,008	0,006	0,008	0,008	0,03	0,05
C21:0	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,002	0,94	0,36
C22:0	0,03	0,04	0,04	0,04	0,03	0,002	0,04	0,04
C22:5	0,04	0,04	0,03	0,02	0,02	0,003	<0,01	0,06
C23:0	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001	0,79	0,36
C24:0	0,02	0,03	0,02	0,03	0,02	0,002	0,99	0,48

^a Erro padrão da média

^b Contrastes polinomiais ortogonais testando as respostas linear (L) e quadrática (Q) ao aumento dos níveis de GIMEX nas dietas.

^c Coelidiu com 13:0.

^d Coelidiu com 17:0 *iso*.

^e Coelidiu com 17:0 *anteiso*.

^f Soma dos AG C18 detalhada na tabela 5.

Tabela 5. Proporções (g/100 g de AG total) de AG C18 na gordura do leite de vacas alimentadas com níveis crescentes de gérmen de milho integral (GIMEX)

Item	Níveis de GIMEX (MS)					EPM ^a	P-Valor ^b	
	0	4	8	12	16		L	Q
C18:0	5,13	8,35	10,1	11,0	10,2	0,550	<0,01	<0,01
C18:1 <i>trans</i> -4	0,03	0,05	0,08	0,07	0,07	0,005	<0,01	<0,01
C18:1 <i>trans</i> -5	0,03	0,04	0,07	0,07	0,07	0,006	<0,01	0,02
C18:1 <i>trans</i> -6/ <i>trans</i> -8	0,20	0,34	0,62	0,75	0,85	0,083	<0,01	0,43
C18:1 <i>trans</i> -9	0,20	0,37	0,78	1,18	1,31	0,086	<0,01	0,75
C18:1 <i>trans</i> -10	0,60	1,55	3,58	5,73	6,90	0,619	<0,01	0,75
C18:1 <i>trans</i> -11	1,22	1,88	2,87	2,08	1,86	0,359	0,08	0,01
C18:1 <i>trans</i> -12	0,25	0,48	0,76	0,81	0,87	0,045	<0,01	<0,01
C18:1 <i>trans</i> -13/ <i>trans</i> -14	0,33	0,43	0,71	0,82	0,92	0,092	<0,01	0,50
C18:1 <i>trans</i> -16	0,21	0,30	0,35	0,37	0,34	0,032	<0,01	0,04
C18:1 <i>cis</i> -9	13,7	19,5	22,5	23,5	25,1	1,220	<0,01	0,13
C18:1 <i>cis</i> -11	0,70	0,78	0,87	0,89	0,98	0,042	<0,01	0,72
C18:1 <i>cis</i> -12	0,21	0,38	0,44	0,35	0,43	0,034	0,02	0,04
C18:1 <i>cis</i> -13	0,06	0,11	0,17	0,16	0,18	0,015	<0,01	0,04
C18:1 <i>cis</i> -15 +19:0	0,06	0,08	0,09	0,09	0,10	0,008	0,01	0,45
C18:2 <i>trans</i> -9, <i>trans</i> -12	0,01	0,03	0,03	0,03	0,03	0,002	0,01	0,09
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -12	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,004	<0,01	0,03
C18:2 n-6	2,81	3,26	3,53	3,70	3,88	0,265	<0,01	0,29
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 ^c	0,71	1,06	1,50	1,04	0,99	0,185	0,25	0,04
C18:2 <i>trans</i> -9, <i>cis</i> -11	0,03	0,05	0,08	0,09	0,11	0,009	<0,01	0,13
C18:2 <i>trans</i> -10, <i>cis</i> 12	0,01	0,03	0,07	0,10	0,11	0,013	<0,01	0,32
C18:3 n-6	0,04	0,03	0,04	0,02	0,02	0,006	0,04	0,45
C18:3 n-3	0,20	0,20	0,19	0,16	0,18	0,018	0,02	0,75

^a Erro padrão da média

^b Contrastes polinomiais ortogonais testando as respostas linear (L) e quadrática (Q) ao aumento dos níveis de GIMEX nas dietas.

^c Contém *trans*-7, *cis*-9 CLA e *trans*-8, *cis*-10 CLA como componentes menores.

Os efeitos acima mencionados da inclusão do GIMEX sobre as proporções de AG individuais do leite resultaram em alterações concomitantes nos principais grupos e proporções de ácidos graxos (Tabela 6). As proporções de ácidos graxos mono (AGMI) e poliinsaturados (AGPI) aumentaram quadraticamente ($P < 0,01$) às custas de ácidos graxos saturados (AGS) com o aumento dos níveis de GIMEX. Além disso, as proporções de AG de cadeia curta (AGCC) e média (AGCM) foram reduzidas linear e quadraticamente ($P < 0,01$), respectivamente, enquanto que AG de cadeia longa (AGCL)

aumentou de forma quadrática ($P < 0,01$) com a inclusão do GIMEX. Os AG ímpar linear e de cadeia ramificada diminuíram quadraticamente ($P = 0,01$) e linearmente ($P < 0,01$), respectivamente, com a inclusão de GIMEX, levando a uma redução quadrática ($P = 0,03$) na proporção do total de AGs de cadeia ímpar e ramificado (AGCIR). O total de AG-*trans* aumentou quadraticamente ($P = 0,06$), enquanto a proporção de AG-*trans* diferente de *trans*-11 18:1 e *cis*-9, *trans*-11 CLA, bem como a razão *trans*-18:1 a 18:0, aumentou linearmente ($P < 0,01$) na gordura do leite de vacas alimentadas com níveis crescentes de GIMEX. Todos os índices SCD1 mudaram de forma quadrática ($P < 0,05$) à medida que os níveis de GIMEX aumentaram na dieta.

Tabela 6. Proporções (g/100g de AG total) dos principais grupos de ácidos graxos (AG) e razões entre AGs na gordura do leite de vacas alimentadas com as dietas experimentais

Item	Níveis de GIMEX (%MS)					EPM ^a	P-Valor ^b	
	0	4	8	12	16		L	Q
∑ AGCC	14,2	11,7	8,29	6,41	4,71	0,685	<0,01	0,09
∑ AGCM	55,2	45,0	37,9	36,0	34,8	1,620	<0,01	<0,01
∑ AGCL	22,5	31,8	40,1	42,9	46,1	1,960	<0,01	<0,01
∑ AGCIR ^c	3,90	2,96	2,37	2,10	2,10	0,166	<0,01	0,03
∑ AG de cadeia ímpar linear	2,93	2,05	1,60	1,46	1,44	1,164	<0,01	0,01
∑ AG de cadeia ramificadas	0,96	0,91	0,76	0,63	0,57	0,029	<0,01	0,07
∑ AGS ^d	69,7	61,3	53,0	50,6	46,7	2,011	<0,01	0,07
∑ AGM	23,0	30,3	37,4	40,2	43,4	1,710	<0,01	0,01
∑ AGPI ^e	4,32	5,14	5,85	5,49	5,67	0,370	0,02	0,09
∑ AG <i>trans</i> ^f	4,54	7,37	12,34	13,93	15,20	1,049	<0,01	0,06
∑ AG <i>trans</i> -(VA+RA)	2,6	4,43	7,97	10,8	12,35	0,861	<0,01	0,59
∑ AG n-3	0,26	0,24	0,22	0,18	0,20	0,020	0,01	0,42
∑ AG n-6	3,22	3,63	3,83	3,92	4,10	0,273	0,06	0,37
Relações de AGs								
18:1 <i>trans</i> -10 /18:1 <i>trans</i> -11	0,69	0,94	1,76	2,99	3,97	0,421	<0,01	0,19
18:1 <i>trans</i> /18:0	0,519	0,617	0,969	1,08	1,28	0,109	<0,01	0,88
n-6:n-3	12,5	14,8	17,6	21,7	21,3	1,203	<0,01	0,20
SCD ₁ índices ^g								
SCD ₁₄	0,100	0,089	0,091	0,086	0,098	0,06	0,57	0,02
SCD ₁₆	0,061	0,059	0,060	0,059	0,069	0,04	0,08	0,04
SCD ₁₈	0,733	0,696	0,689	0,682	0,709	0,02	0,05	0,01
SCD _{RA}	0,395	0,365	0,339	0,335	0,343	0,01	0,06	0,03

^a Erro padrão da média

^b Contrastes polinomiais ortogonais testando as respostas linear (L) e quadrática (Q) ao aumento dos níveis de GIMEX nas dietas.

^c Soma de AG de cadeia ímpar e ramificada, exceto 13:0, *iso* 17:0 e *anteiso* 17:0, pois co-eluíram com *cis*-9 12:1, *trans*-9 16:1 e *cis*-9 16:1, respectivamente.

^d Soma de ácidos graxos saturados, exceto 13:0, *iso* 17:0 e *anteiso* 17:0 quando co-eluíram com *cis*-9 12:1, *trans*-9 16:1 e *cis*-9 16:1, respectivamente.

^e Soma de ácidos graxos poliinsaturados, incluindo isômeros de CLA.

^f Soma de todos os ácidos graxos *trans*, incluindo isômeros de CLA.

^g Índices de estearoil-CoA dessaturase-1 (SCD1) calculados para *cis*-9 14:1/14:0 (SCD14), *cis*-9 16:1/16:0 (SCD16), *cis*-9 18:1/18:0 (SCD18) e pares *cis*-9, *trans*-11 CLA/*trans*-11 18:1 (SCDRA) (KELSEY et al., 2003).

Um aumento acentuado (756 para 1480 mg/L, respectivamente) na concentração de colesterol sérico foi observado em resposta a inclusão 0 e 16% de GIMEX. Corroborando com esses resultados, Abdelqader et al. (2009a) observaram que a concentração de colesterol no sangue tendia a aumentar em vacas alimentadas com níveis crescentes de gérmen de milho obtido por via seca. Conforme apontado por Vargas-Bello-Pérez et al. (2017), um aumento nos níveis de colesterol é necessário para apoiar o transporte de grandes quantidades de AGI na corrente sanguínea. Portanto, o aumento nos níveis séricos de colesterol das vacas alimentadas com GIMEX pode resultar de um ajuste fisiológico a uma maior demanda de colesterol para digestão, absorção e transporte de AG que chega ao intestino das vacas, o que pode contribuir para explicar a tendência ($P=0,07$) para aumento dos níveis plasmáticos de triglicerídeos em vacas suplementadas com GIMEX.

A ausência de efeito das dietas sobre a concentração plasmática de glicose está de acordo com os resultados relatados por Abdelqader et al. (2009a) e de outros estudos em que vacas leiteiras foram alimentadas com níveis crescentes de óleos vegetais em dietas à base de cana-de-açúcar (SOUSA et al., 2019; RODRIGUES et al., 2017). Esses achados indicam que mesmo quando a ingestão de gordura é marcadamente aumentada em detrimento do amido devido à substituição do milho por GIMEX na dieta, e apesar da queda significativa no CMS, a concentração sérica de glicose ainda é mantida dentro dos níveis normais por meio de mecanismos de controle homeostático (ASCHENBACH et al, 2010).

As concentrações plasmáticas de proteína total, albumina e ureia não foram alteradas pela inclusão de GIMEX, o que está de acordo com resultados de outros estudos onde o óleo de soja substituiu o milho em dietas contendo cana-de-açúcar (RODRIGUES et al., 2017) ou silagem de milho (OLIVEIRA et al. al., 2021) como fontes forrageiras.

A inclusão gradual de GIMEX na dieta levou a uma diminuição acentuada no teor de gordura do leite, uma condição comumente referida como depressão da gordura do leite induzida pela dieta (DGL) (Capítulo 1). Conforme observado na DGL clássica, a redução na secreção de gordura do leite foi associada a uma via alterada de BH ruminal caracterizada por um aumento da formação de *trans*-10 18:1 em detrimento de *trans*-11 18:1. O *trans*-11 18:1 é o principal intermediário de BH secretado no leite na maioria das condições dietéticas (KLIEM e SHINGFIELD, 2016), mas em vacas que exibem DGL a proporção de *trans*-10 18:1 na gordura do leite pode exceder a do *trans*-11 18:1, que é normalmente referido como o deslocamento *trans*-10 (DEWANCKELE ET AL., 2019B;

ALVES E BESSA, 2014). Essa mudança foi observada no presente estudo, com a relação *trans*-10 18:1/*trans*-11 18:1 na gordura do leite variando de 1,76 para 3,97 com a inclusão 8 e 16% de GIMEX, respectivamente.

Semelhante ao que foi relatado em muitos estudos com vacas leiteiras, onde a DGL foi induzida pela alimentação com óleo vegetal (VAZIRIGOHAR et al., 2013), a DGL induzida pela inclusão do GIMEX foi acompanhada por proporções aumentadas de *trans*-10, *cis*-12 CLA e *trans*-9, *cis*-11 CLA na gordura do leite. Ambos os isômeros do CLA demonstraram inibir a síntese de gordura do leite em vacas leiteiras, mas o *trans*-9, *cis*-11 CLA parece ser menos potente (KOCH e LASCANO, 2018).

Embora os rendimentos de AG de todos os comprimentos de cadeia sejam diminuídos durante a DGL, os AG sintetizados na glândula mamária são diminuídos em maior extensão nos casos de DGL mais pronunciada (HARVATINE e BOLSCLAIR, 2009). Isso resulta em uma mudança no perfil de ácidos graxos do leite, de modo que as proporções de AG de cadeia curta e média são diminuídas e as de cadeia longa aumentam (BAUMAN e GRIINARI, 2001). Além disso, o fornecimento dietético de AGPI C18 pode, por si só, inibir a síntese *de novo* de AG na glândula mamária (SHINGFIELD et al., 2013; CHILLIARD et al., 2007).

O aumento nas proporções da maioria dos isômeros *cis* e *trans*-18:1 observados na gordura do leite de vacas alimentadas com GIMEX indicam que os AGPI presentes no GIMEX estavam disponíveis para BH ruminal em algum grau, um pré-requisito para qualquer fonte de gordura destinada a aumentar o fluxo ruminal de *trans*-11 18:1. Miller et al. (2009) relataram que a proporção de *trans*-11 18:1 na gordura do leite aumentou em maior extensão em vacas alimentadas com GIMEX (44% EE, com base na MS) do que naquelas alimentadas com caroço de algodão ou sebo, quando quantidades iguais de gordura suplementar (1,6% da MS da dieta) foram fornecidos a partir dessas fontes lipídicas.

Como a proporção de 18:2 n-6 no GIMEX utilizada por Miller et al. (2009) é muito semelhante (~56 g/100g de AG total) ao caroço de algodão inteiro (BERTRAND et al., 2005), mas as proporções de 18:3 n-3 e 18:1 n-9 são maiores em GIMEX, não está claro se o aumento do teor de *trans*-11 18:1 encontrado no leite de vacas alimentadas com GIMEX foi devido a uma maior disponibilidade ruminal de óleo do GIMEX ou a uma maior oferta de precursores principais para a produção ruminal de *trans*-11 18:1. A maior proporção de 18:2 n-6 encontrada na gordura do leite de vacas alimentadas com GIMEX

do que naquelas alimentadas com caroço de algodão integral (3,81 vs. 3,46 g/100 g de AG total) sugere, no entanto, que a segunda hipótese pode ser mais plausível.

Abdelqader et al. (2009) também observaram um aumento significativo, mas modesto, na proporção de *trans*-11 18:1 no leite de vacas alimentadas com dietas suplementadas com até 21% de gérmen de milho obtido pelo processo de moagem a seco (19,9% EE, em base MS). Pode-se especular que o processo de moagem a seco utilizado para produzir o gérmen de milho utilizado por Abdelqader et al. (2009) diminui a disponibilidade ruminal do óleo presente no gérmen, quando comparado ao processo de moagem úmida utilizado para produzir o GIMEX utilizado no presente estudo e por Miller et al. (2009). No entanto, nenhum estudo abordou essa questão, o que justifica uma investigação mais aprofundada.

Além da disponibilidade ruminal do óleo presente nos suplementos lipídicos, outros importantes fatores dietéticos têm demonstrado influenciar a saída ruminal de *trans*-11 18:1 e, portanto, sua abundância no leite. Por exemplo, certas práticas de alimentação demonstraram promover uma inibição da última etapa da BH ruminal, levando a um aumento do fluxo ruminal de *trans*-11 18:1 às custas de 18:0. A suplementação dietética com lipídios marinhos ricos em AGPI n-3 de cadeia longa (TORAL et al., 2017), bem como com polifenóis vegetais, como taninos condensados (VASTA et al., 2019) são duas estratégias dietéticas comumente usadas para aumentar saída de *trans*-11 18:1 do rúmen promovendo um BH incompleta de AGPI presente na dieta.

Em um estudo recente, GAMA et al. (2020) mostrou que a substituição parcial da silagem de sorgo por palma forrageira (*Opuntia stricta*) em uma dieta suplementada com óleo de soja aumentou marcadamente o *trans*-11 18:1 e diminuiu a proporção 18:0 no leite de vacas leiteiras. Como apontado pelos autores, esse efeito pode ser, pelo menos em parte, atribuído à presença de compostos fenólicos na palma forrageira, que parecem modular a composição da microbiota ruminal de forma a favorecer um BH incompleta de AGPI da dieta.

Os resultados do presente trabalho também sugerem que um padrão de BH ruminal incompleto estava presente, pois a proporção de 18:0 na gordura do leite não excedeu 11,0 g/100g de AG total, apesar da alta ingestão de GIMEX, com níveis tão baixos quanto 5,13 g/100g na dieta com 0% de GIMEX. Assim, as proporções aumentadas de isômeros *trans*-18:1 observadas na gordura do leite de vacas alimentadas com GIMEX parecem estar, pelo menos em parte, associadas a uma BH ruminal incompleta de AGPI da dieta resultante da presença de palma forrageira no rúmen.

Embora as proporções de todos os isômeros *trans*-18:1 tenham aumentado em maior ou menor grau na gordura do leite de vacas alimentadas com GIMEX, o aumento acentuado observado em *trans*-10 18:1 indica que a dieta basal usada no presente estudo foi incapaz de manter um ambiente ruminal saudável, levando a um turno *trans*-10 em vacas alimentadas a partir de 8% de inclusão do GIMEX. A dieta basal utilizada continha cana-de-açúcar como principal fonte de fibra fisicamente efetiva e palma forrageira. Apesar de ser considerada uma forrageira, o teor de FDN da palma (~25% FDN) é muito inferior ao das forrageiras convencionais (LOPES et al., 2019). Por isso, a palma não pode ser utilizada como única fonte de forragem em dietas de ruminantes, e por isso geralmente é associada a forrageiras convencionais como cana-de-açúcar, bagaço de cana ou silagem de sorgo (MONTEIRO et al., 2019; MORAES et al., 2019); SIQUEIRA et al., 2019) para fornecer quantidades suficientes de fibra fisicamente efetiva para estimular a ruminação e manter um pH ruminal normal (FERREIRA et al., 2009).

O potencial para enriquecer o leite de vaca com 18:2 n-6 ou 18:3 n-3 usando óleos vegetais ou oleaginosas desprotegidos é limitado, com proporções no leite raramente superiores a 4,0% do AG total para 18:2 n-6 e 1,2% do total de AG para 18:3 n-3 (KLIEM e SHINGFIELD, 2016). As proporções relativamente altas de 18:2 n-6 observadas com a inclusão do GIMEX podem ser devido a um aumento da taxa de passagem ruminal de partículas de ração, ou inibição da lipólise ou BH induzida pela presença de palma forrageira na dieta, como sugerido por Gama et al. (2020). Além disso, um baixo pH ruminal (que é conhecido por inibir a lipólise), bem como algum grau de proteção do óleo na matriz do GIMEX também podem ter contribuído para explicar essa resposta.

Ao contrário do observado para 18:2 n-6, a proporção de 18:3 n-3 na gordura do leite diminuiu linearmente com a inclusão do GIMEX. Este efeito foi possivelmente associado a uma redução na ingestão de 18:3 n-3 (dados não mostrados) como consequência da diminuição do CMS. Essas mudanças contrastantes nas proporções de 18:2 n-6 e 18:3 n-3 refletiram-se na razão n-6:n-3 FA na gordura do leite, que quase dobrou nas vacas alimentadas com maiores níveis de GIMEX.

Os AGCIR derivam principalmente de lipídios microbianos do rúmen (REGO et al., 2009), e sua proporção na gordura do leite tem sido proposta como um marcador da síntese de proteínas microbianas no rúmen (VLAEMINCK et al., 2005). Assim, a diminuição da proporção de AGCIR total na gordura do leite de vacas alimentadas com GIMEX sugere uma inibição do crescimento microbiano, provavelmente devido aos efeitos deletérios da alta ingestão de AGPI e redução de carboidratos facilmente

fermentáveis resultantes da substituição do fubá de milho por GIMEX na dieta. Ao contrário do que foi relatado por Vlaeminck et al. (2006), o teor de amido da dieta foi positivamente correlacionado com as proporções de *iso* C14:0, *iso* C15:0 e *iso* C16:0 nesse estudo, o que pode ser explicado por diferenças na composição basal da dieta. No entanto, de acordo com os resultados obtidos, esses autores também relataram menores proporções de AGCIR no leite em vacas alimentadas com suplementos ricos em C18:2 n-6. Além disso, a redução da lipogênese *de novo* na glândula mamária também pode ter contribuído para a diminuição da proporção de AGCIR no leite, uma vez que a síntese pós-ruminal de alguns desses AG também foi relatada (VLAEMINCK et al., 2015).

O aumento do fluxo de *trans*-10, *cis*-12 CLA e *trans*-9, *trans*-11 CLA para a glândula mamária de vacas alimentadas com GIMEX pode ajudar a explicar as reduções quadráticas observadas nos índices de dessaturase SCD1 (BERNARD, LEROUX e CHILLIARD, 2013). Conforme relatado em outros estudos com vacas alimentadas com dietas suplementadas com lipídios vegetais (KLIEM e SHINGFIELD, 2016), no presente estudo, o GIMEX reduziu a proporção de AG total na gordura do leite, notadamente 16:0, e em menor grau 12:0 e 14:0, que foi acompanhado por aumentos nas proporções de AGM, AGPI e todos os AG *trans*.

4. CONCLUSÃO

As mudanças na composição de ácidos graxos do leite indicam que o GIMEX foi uma fonte eficaz de lipídios na dieta para aumentar o fluxo ruminal de intermediários de biohidrogenação para a glândula mamária de vacas e, portanto, deve ser considerado como uma alternativa aos óleos vegetais em programas de alimentação destinados à produção de leite enriquecido com CLA.

No entanto, os resultados também evidenciam que outras forrageiras, ao invés da cana-de-açúcar, devem ser consideradas em associação com a palma forrageira (*Opuntia stricta*) para prevenir o desvio da rota de BH ruminal em favor da produção de C18:1 *trans*-10 e de CLA *trans*-10, *cis*-12, com consequente DGL.

5. REFERÊNCIAS

- ABDELQADER, M.M. et al. Evaluation of corn germ from ethanol production as an alternative fat source in dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.1023-1037, 2009a. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1207>.
- ABDELQADER, M.M. et al. Isolipidic additions of fat from corn germ, corn distillers grains, or corn oil in dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.5523-5533, 2009b. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1867>.
- ALVES, SP., BESSA, R.J.B. The *trans*-10, *cis*-15 18:2: A missing intermediate of *trans* 10 shifted rumen biohydrogenation pathway?. **Lipids**, v.49, p.527-541, 2014. <https://doi.org/10.1007/s11745-014-3897-4>
- AOAC, 1995. Official methods of analysis (16th edn). AOAC International.
- AOAC, 2005. Official methods of analysis (18th edn). AOAC International.
- AOAC, 2012. Official Method 989.05. Fat in milk. Modified Mojonnier ether extraction method. Official Methods of Analysis of AOAC International (19th edn). AOAC International.
- ASCHENBACH J.R. et al. Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough. **IUBMB Life**. v.62, p.869-77, 2010. <https://doi.org/10.1002/iub.400>
- BALDIN, M. et al. A rumen unprotected conjugated linoleic acid supplement inhibits milk fat synthesis and improves energy balance in lactating goats. **Journal Animal Science**, v.91, p.3305-3314, 2013. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5766>
- Bauman, D.E., Griinari, J.M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: Low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v.70, p.15-29, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00195-6](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00195-6)
- BERNARD L., LEROUX C., CHILLIARD Y. Expression and Nutritional Regulation of Stearoyl-CoA Desaturase Genes in the Ruminant Mammary Gland: Relationship with Milk Acid Composition. Em: Ntambi, Ph.DJ (eds) Stearoyl-CoA Desaturase Genes in Lipid Metabolism. Springer, New York, NY, 2013. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7969-7_13
- CHILLIARD, Y. et al. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. **European Journal Lipid Science and Technology**, v.109, p.828-855, 2007. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700080>
- COLLOMB, M. et al. Conjugated linoleic acids in milk fat: variation and physiological effects. **International Dairy Journal**, v.16, p.1347-1361, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.06.021>
- CRUZ-HERNANDEZ, C. et al. 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. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.3786-3801, 2007. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-698>

DEN HARTIGH LJ. Conjugated Linoleic Acid Effects on Cancer, Obesity, and Atherosclerosis: A Review of Pre-Clinical and Human Trials with Current Perspectives. **Nutrients**, v.11, n. 2, p.370, 2019. <https://doi.org/10.3390/nu11020370>

DEWANCKELE, L. et al. Distinct blood and milk 18-carbon fatty acid proportions and buccal bacterial populations in dairy cows differing in reticulorumen pH response to dietary supplementation to rapidly fermentable carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, v.102, p.4025-4040, 2019b. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15823>.

FARIAS, I. et al. Manejo de colheita e espaçamento da palma forrageira, em consórcio com sorgo granífero no Agreste de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.341-347, 2000. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2000000200013>

FERREIRA, M.A. et al. Estratégias na suplementação de vacas leiteiras no semiárido do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.38322-329, 2009. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009001300032>

FUKE, G., NORNBORG, J.L. Systematic evaluation on the effectiveness of conjugated linoleic acid in human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.57, p.1-7, 2017. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.716800>

GAMA M.A.S. et al. Partially replacing sorghum silage with cactus (*Opuntia stricta*) cladodes in a soybean oil-supplemented diet markedly increases *trans*-11 18:1, *cis*-9, *trans*-11 CLA and 18:2 n-6 contents in cow milk. **Journal Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.105, p.232-246, 2020. <https://doi.org/10.1111/jpn.13466>

GAMA, M.A.S. et al. Diet-induced milk fat depression: Association with changes in milk fatty acid composition and fluidity of milk fat. **Livestock Science**, v.115, p.319-331, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.08.006>

HALL, M.B. Neutral detergent-soluble carbohydrates. Nutritional relevance and analysis: University of Florida, 2000.

HARVATINE, K.J., BOISCLAIR, Y.R., BAUMAN, D.E. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. **Animal**, v.3, p.40-54, 2009. <https://doi.org/10.1017/S1751731108003133>

KELSEY, JA. et al. The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.2588-2597, 2003. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73854-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73854-5)

KLIEM, K.E., SHINGFIELD, K.J. Manipulation of milk fatty acid composition in lactating cows: Opportunities and challenges. **Eurean Journal Lipid Science Technology**, v.118, p.1661-1683, 2016. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400543>

KOCH, L.E., LASCANO, G.J. Milk Fat Depression: Etiology, Theories, and Soluble Carbohydrate Interactions. **Journal Animal Research**, v.3, p.2, 2018. <https://doi.org/10.21>

767/2572-5459.100046

KÖPPEN, W, 1948. Climatology: Earth climate studies. México: Fondo de Cultura Economica. pp. 478.

LICITRA, G., HERNANDEZ, T.M., VAN SOEST, P.J. Standardisation of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, p.347-358, 1996. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00837-3](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00837-3)

LOPES, L.A. et al. Palma forrageira na alimentação de ruminantes, **PUBVET**, v.13, p.1-10, 2019. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n3a277.1-10>

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: Collaborative study. **J. AOAC Inter**, v.85, p.1217–1240, 2002. <https://doi.org/10.1093/jaoac/85.6.1217>

MILLER, W.F. et al. Comparison of full-fat corn germ, whole cottonseed, and tallow as fat sources for lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.3386-3391, 2009. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2118>

MONTEIRO, C.C.F. et al. A new cactus variety for dairy cows in areas infested with *Dactylopius opuntiae*. **Animal Production Science**, v.59, p.479-485, 2019. <https://doi.org/10.1071/AN17256>

MORAES, G.S.O. et al. Cactus [*Opuntia stricta* (Haw.) Haw] cladodes and corn silage: How do we maximize the performance of lactating dairy cows reared in semiarid regions? **Livestock Science**, v.21, p.133-138, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.01.026>

National Research Council (NRC) (2001). Nutrient requirements of dairy cattle. The National Academies Press.

OLIVEIRA, M.X.S. et al. Inclusion of soybean and linseed oils in the diet of lactating dairy cows makes the milk fatty acid profile nutritionally healthier for the human diet. **PLoS ONE**, 16 (2): e0246357, 2021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246357>

PALMQUIST, D.L., JENKINS, T.C. Challenges with fats and fatty acid methods. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.3250-3254, 2003. <https://doi.org/10.2527/2003.8112325>

0x

PARODI, P.W. Dietary guidelines for saturated fatty acids are not supported by the evidence. **International of Dairy Journal**, v.52, p.115-123, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.08.007>

REGO, O.A. et al. Rumen biohydrogenation-derived fatty acids in milk fat from grazing dairy cows supplemented with rapeseed, sunflower, or linseed oils. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.4530-4540, 2009. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2060>

RODRIGUES J.P.P. et al. Short-term effects of soybean oil supplementation on performance, digestion, and metabolism in dairy cows fed sugarcane-based diets.

Journal of Dairy Science, v.100, p. 4435-4447, 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11725>

SAS Institute Inc., 2012. SAS/STAT® 9.4 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.

SHINGFIELD, K.J., BONNET, M., SCOLLAN, N.D. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. **Animal**, v.7, p.132-162, 2013. <https://doi.org/10.1017/S1751731112001681>

SIQUEIRA, T.D.Q. et al. Cactus cladodes associated with urea and sugarcane bagasse: an alternative to conserved feed in semi-arid regions. **Tropical Animal Health Production**, v.51, p.1975-1980, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01895-1>

SOUZA, S.M. et al. Milk fatty acid composition of Holstein x Gyr dairy cows fed sugarcane-based diets containing citrus pulp supplemented with sunflower oil. **Ciências Agrárias**, v.40, p.1663-1680, 2019. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n4p1663>

SUKHIJA, P.S., PALMQUIST, D.L. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. **Journal Agric. Food Chem**, v.36, p.1202-1206, 1988. <https://doi.org/10.1021/jf00084a019>

TORAL, P.G. et al. In vitro response to EPA, DPA, and DHA: comparison of effects on ruminal fermentation and biohydrogenation of 18-carbon fatty acids in cows and ewes. **Journal Dairy Science**, v.100, p.6187-6198, 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12638>

VARGAS-BELLO-PÉREZ, E. et al. Transport of fatty acids within plasma lipoproteins in lactating and non-lactating cows fed on fish oil and hydrogenated palm oil. **Journal Animal Physiology Animal and Nutrition**, v.101, p.369-377, 2017. <https://doi.org/10.1111/jpn.12545>

VASTA, V. et al. Invited review: Plant polyphenols and rumen microbiota responsible for fatty acid biohydrogenation, fiber digestion, and methane emission: Experimental evidence and methodological approaches. **Journal Dairy Science**, v.102, p.3781-3804, 2019. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14985>

VAZIRIGOHAR, M. et al. Fat source and dietary forage-to-concentrate ratio influences milk fatty-acid composition in lactating cows. **Animal**, v.8, p.163-174, 2014. <https://doi.org/10.1017/S175173111300181X>

VLAEMINCK, B. et al. Use of odd and branched-chain fatty acids in rumen contents and milk as a potential microbial marker. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.1031-1042, 2005. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72771-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72771-5)

VLAEMINCK B. et al. Milk odd- and branched-chain fatty acids in relation to the rumen fermentation pattern. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.10, p.3954-64, 2006. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72437-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72437-7)

VLAEMINCK, B. et al. Postruminal synthesis modifies the odd- and branched-chain fatty acid profile from the duodenum to milk. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.4829-4840, 2015. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9207>

WALTER, M., SILVA, L.P., PERDOMO, D.M.X. Digestible and resistant starch in foods: adaptation of the AOAC method 996.11. **Alimentos e Nutrição**, v.16, n.1, p.39-43, 2005.

WEISS, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds. Proceedings of the 61th Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers; Ithaca, NY, USA: Cornell University; pp. 176-85, 1999.

WOLFF, R.L. et al. 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. **J. of AOCS**, v.72, p.1471-1483, 1995. <https://doi.org/10.1007/BF02577840>

YANG, B et al. Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. **Journal of Functional Foods**, v.15, p.314-325, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.050>