

Produção de leite com alto teor de ácido linoléico conjugado (CLA)

Autor: Marco Antônio Sundfeld da Gama

Instituição: Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, Minas Gerais

- *Sumário:*

1. Introdução
2. Ácido linoléico conjugado (Conjugated Linoleic Acid = CLA)
 - 1.1 Caracterização
 - 1.2 Ocorrência na natureza (fontes dietéticas)
 - 1.3 Biossíntese em ruminantes
 - 1.4 Efeitos biológicos: fontes sintéticas vs. naturais
3. Fatores que afetam o teor de CLA no leite
4. Efeito da nutrição sobre o teor de CLA no leite
 - 4.1 Pasto vs. forragem conservada
 - 4.2 Suplementação da dieta com óleos vegetais
 - 4.3 Suplementação da dieta com óleos de peixe
 - 4.4 Variação temporal no perfil de ácidos graxos do leite
5. Efeitos concomitantes sobre outros ácidos graxos do leite e suas implicações
6. Conclusões
7. Referências bibliográficas

1. Introdução

Certos alimentos podem contribuir para a prevenção de doenças crônicas da população humana, tais como câncer, doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes, reduzindo o impacto econômico e social advindo destas enfermidades. Tais alimentos são denominados “funcionais”, um termo genérico usado para descrever alimentos e componentes do alimento que promovam benefícios adicionais aos associados ao seu valor nutritivo básico. A gordura do leite de ruminantes contém diversos componentes capazes de promover efeitos benéficos à saúde humana, como o ácido butírico, os ácidos graxos de cadeia ramificada, o CLA cis-9 trans-11 e o seu precursor, o ácido vaccênico (C18:1 trans-11). Em particular, grande atenção tem sido direcionada para os ácidos linolêicos conjugados (comumente referidos como CLA), desde a descoberta de suas propriedades anticarcinogênicas em estudos conduzidos há mais de duas décadas. Desde então, inúmeros experimentos conduzidos principalmente com animais e em cultura de tecido humano têm demonstrado outros efeitos biológicos potencialmente benéficos à saúde humana de certos isômeros de CLA, particularmente do CLA cis-9 trans-11. Tais efeitos incluem: redução na formação de ateromas (atividade anti-aterogênica), restauração da sensibilidade à insulina (efeito anti-diabetogênico), redução na deposição de gordura corporal (ação anti-obesidade) e redução dos efeitos catabólicos desencadeados pela resposta imunológica. Diante das crescentes evidências científicas dos efeitos positivos à saúde humana promovidos pelo CLA, e pelo fato da gordura do leite ser a principal fonte de CLA cis-9 trans-11 na dieta humana, grandes esforços têm sido feitos para aumentar a concentração deste ácido graxo no leite. O CLA cis-9 trans-11 é o principal isômero de CLA encontrado no leite (75 a 90% do CLA total), e sua concentração na gordura do leite pode variar amplamente, com valores de 0,2 a 54 g/100g de ácidos graxos totais tendo sido observados na literatura. Dos fatores que contribuem para esta variação, a dieta é indubitavelmente o mais importante. Por meio da manipulação da dieta de vacas leiteiras, por exemplo, o teor de CLA no leite pode variar mais do que cinco vezes, ao passo a influência de fatores como raça, ordem de parição e estágio de lactação é muito menos significativa. Com relação à dieta, vários estudos demonstraram que ruminantes mantidos a pasto

apresentam um teor de CLA mais elevado do que aqueles recebendo dietas típicas de animais confinados de alta produção (forragens conservadas e concentrados à base de grãos e farelos protéicos). Entretanto, a suplementação de dietas completas (TMR) com fontes óleos vegetais e/ou de peixe pode elevar o teor de CLA no leite a níveis ainda superiores aos observados em animais mantidos a pasto, embora o tipo de isômero de CLA secretado no leite possa variar ao longo do período de suplementação, dependendo da dieta basal utilizada. Esta alteração no perfil de ácidos graxos produzidos no rúmen e secretados no leite pode, por sua vez, resultar em redução do teor de gordura do leite, o que pode gerar prejuízo ao produtor no caso de pagamento do leite por qualidade. Além de afetar o teor e o tipo de CLA do leite, a manipulação da dieta pode resultar em alteração na concentração de outros ácidos graxos importantes, como os C18:1 trans e os saturados de cadeia média. Tais alterações podem, por sua vez, exercer efeitos adicionais sobre a saúde humana e sobre as propriedades físico-químicas da gordura do leite.

2. Ácido linoléico conjugado (Conjugated Linoleic Acid = CLA)

2.1 Caracterização

O termo CLA refere-se a uma série de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoléico (C18:2 cis-9 cis-12), os quais caracterizam-se pela presença de duplas ligações conjugadas, isto é, separadas por apenas uma ligação simples entre átomos de carbono. A descoberta do CLA tem início na década de 30, quando pesquisadores identificaram, na gordura do leite, compostos que absorviam luz em comprimento de onda de 230 nm, resultante da presença das duplas ligações conjugadas (Kramer et al., 2004, Khanal & Dhiman, 2004). Posteriormente, o uso da cromatografia gasosa e de outras técnicas analíticas permitiu a identificação de cerca de 20 isômeros de CLA na gordura do leite e da carne de ruminantes, diferindo tanto na posição da dupla ligação quanto na sua configuração geométrica, que pode ser do tipo *cis* ou *trans* (Roach et al., 2002).

2.2. Ocorrência na natureza (fontes dietéticas)

Embora o CLA seja encontrado naturalmente em muitos alimentos, sua principal fonte dietética são os produtos lácteos e outros alimentos derivados de ruminantes (Lawson et al., 2001) (Tabela 1).

Tabela 1: Ácido linoléico conjugado total e CLA cis-9 trans-11 em diferentes alimentos (Adaptado de Lawson et al., 2001).

Alimento	Total CLA (g/kg de gordura)
Manteiga	9,4 a 11,9
Queijo processado	3,2 a 8,9
Queijo natural	0,6 a 7,1
Iogurte	5,1 a 9,0
Carne bovina	4,4 a 6,6
Óleos vegetais	0,2
Gordura do leite	2,0 a 30,0

O isômero mais abundante encontrado na gordura do leite de ruminantes é o CLA cis-9 trans-11 (75 a 90% do CLA total), seguido pelo CLA trans-7 cis-9, compreendendo 3 a 16% do CLA total (Bauman et al., 2003). O CLA trans-10 cis-12 ocorre em baixíssima concentração na gordura do leite, embora sua concentração possa ser significativamente aumentada quando dietas com baixo teor de fibra e elevado teor de lipídeos poliinsaturados são fornecidas aos animais, resultando em acentuada queda do teor de gordura do leite (Piperova et al., 2000, Tabela 2).

Tabela 2: Teor de ácido linoléico conjugado e sua distribuição isomérica na gordura do leite de vacas em lactação recebendo dietas controle ou que induzam depressão da gordura do leite (DGL) (Adaptado de Piperova et al., 2000)

	Controle	DGL	P
CLA total (g/100g de AG totais)	0,56	0,95	<0,001
Isômeros de CLA (g/100g de CLA total)			
trans-7, cis-9	7,8	23,4	<0,001
cis-8, trans-10	1,5	1,8	<0,01
cis-9, trans-11	79,7	56,7	<0,001
trans-10, cis-12	1,0	10,1	<0,001

cis-11, trans-13	0,2	0,1	NS
trans-11, cis-13	0,7	0,2	<0,001
cis-12, trans-14	0,7	0,7	NS

P = probabilidade; NS = not significant (P>0,05)

Estudos posteriores demonstraram que este isômero de CLA é um potente inibidor da síntese de gordura do leite (Baumgard et al., 2000), conforme demonstrado no item 2.4.

2.3 Biossíntese em ruminantes

Os ácidos graxos presentes nas forragens, cereais e sementes oleaginosas são, em sua maioria, ácidos graxos poliinsaturados de 18 carbonos (ex.: ácidos linoléico e α -linolênico), com algumas fontes (ex.: óleos de amendoim e oliva) contendo elevado teor de ácidos graxos monoinsaturados, como o ácido oléico (C18:1 cis-9). Óleos de peixe, em contrapartida, são ricos em ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa da série w-3, especialmente o ácido eicosapentaenóico (EPA, C20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3). Estes ácidos graxos são extensivamente metabolizados e biohidrogenados no rúmen, resultando não somente na produção de C18:0, mas também em uma série de intermediários de biohidrogenação, como isômeros de C18:1 trans e de CLA (Chilliard et al., 2007; Figura 1).

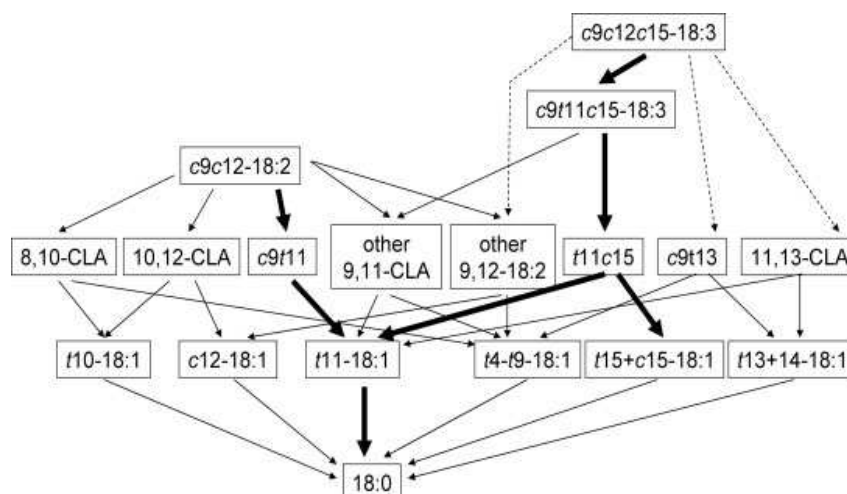


Figura 1: Principais intermediários da biohidrogenação dos ácidos linoléico e α -linolênico no rúmen (Fonte: Chilliard et al., 2007).

O tipo de isômero formado varia amplamente em função da dieta fornecida, como demonstrado em diversos estudos (Roy et al., 2006; Bell et al., 2006; Jurjanz et al., 2004; Loores et al., 2005). Além de serem absorvidos no intestino e diretamente secretados no leite, alguns intermediários da biohidrogenação ruminal são reduzidos nos tecidos, especialmente na glândula mamária, por ação da enzima Δ -9 dessaturase (Chilliard et al., 2007; Figura 2).

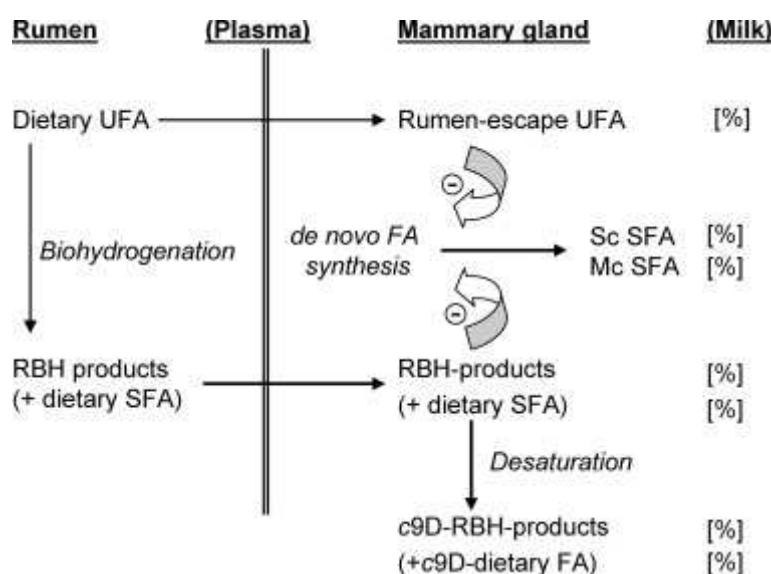


Figura 2: Relação entre a biohidrogenação ruminal (RBH), metabolismo mamário e a composição de ácidos graxos do leite. UFA, SFA = unsaturated, saturated FA; Sc, Mc = short-, medium-chain; c9D = cis-9-desaturated; [%] = alteração na concentração de ácidos graxos do leite, como resultado da mudança no fluxo de diferentes ácidos graxos (Fonte: Chilliard et al., 2007).

Esta síntese endógena é responsável pela maior parte (64 a 93%) do CLA cis-9 trans-11 presente no leite, tendo como precursor o C18:1 trans-11 que escapa da biohidrogenação ruminal (Grinari et al., 2000; Corl et al., 2001; Piperova et al., 2002; Kay et al., 2004). Similarmente, Corl et al. (2002) demonstraram que o CLA trans-7 cis-9 encontrado no leite é oriundo quase exclusivamente de síntese endógena. Portanto, o fornecimento de dietas que favoreçam o aumento do fluxo de precursores do rúmen para o intestino representa uma estratégia nutricional para aumento da concentração do produto no leite, via ação da enzima Δ -9 dessaturase. Esta associação é claramente

ilustrada para o par CLA cis-9 trans-11/C18:1 trans-11 (produto/precursor) na Figura 3 (Khanal e Dhiman, 2004).

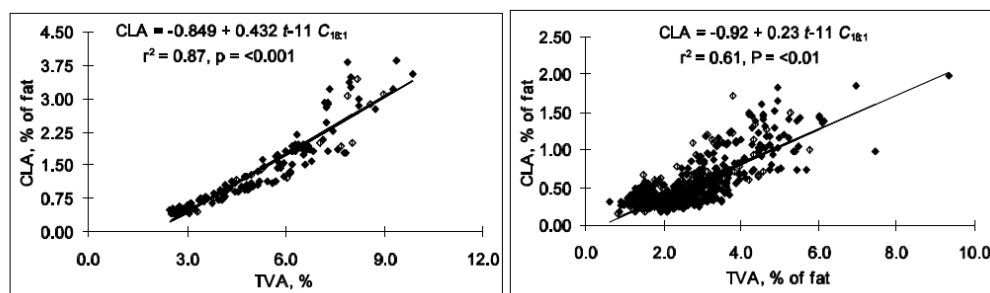


Figura 3: Relação entre CLA cis-9 trans-11 e C18:1 trans-11 na gordura do leite. As amostras de leite foram obtidas de vacas a pasto (painel esquerdo) ou de vacas a pasto suplementadas com grãos ou confinadas (painel direito). (Fonte: Khanal e Dhiman, 2004).

Ao contrário do observado para o CLA cis-9 trans-11 e CLA trans-7 cis-9, os demais isômeros de CLA encontrados na gordura do leite de ruminantes parecem ser originados exclusivamente do rúmen, como intermediários da biohidrogenação dos ácidos linoléico e α -linolênico presentes na dieta (Bauman et al., 2003). Digno de nota, estudo *in vitro* recente demonstrou que, ao contrário do que se acreditava, tanto o CLA cis-9 trans-11 quanto o CLA trans-10 cis-12 podem ser formados pela biohidrogenação ruminal do ácido α -linolênico (Lee et al., 2009).

2.4. Efeitos biológicos: fontes sintéticas vs. naturais

A atividade biológica do CLA foi descobertas acidentalmente, quando Pariza e Hargraves (1985) investigavam as propriedades carcinogênicas da carne bovina grelhada. No entanto, ao contrário do esperado, este estudo demonstrou que os ácidos graxos presentes na carne apresentavam atividade anticarcinogênica, efeito posteriormente atribuído ao CLA presente na fração lipídica (Ha et al., 1987). Desde

então, diversos estudos com modelos animais e culturas de células derivadas de humanos e animais têm relatado uma série de efeitos benéficos do CLA. Tais efeitos incluem ação antiadipogênica, anti-carcinogênica, anti-aterogênica, anti-diabetogênica e modulação da resposta inflamatória (Pariza et al., 2001; Belury, 2002; Bhattacharya et al., 2006). A Tabela 3 apresenta alguns efeitos fisiológicos observados em diversos estudos com CLA (Pariza, 2004).

Tabela 3: Alguns dos efeitos fisiológicos do ácido linoléico conjugado (CLA) (Adaptado de Pariza, 2004).

Efeito anticarcinogênico
Melhora a resposta imune
Reduz inflamação
Reduz efeitos catabólicos da resposta imune
Reduz asma em modelos animais
Reduz aterosclerose
Aumenta o crescimento de roedores jovens
Reduz deposição de gordura
Aumenta o ganho de massa magra
Reduz os efeitos negativos de dietas que induzem perda de peso
Reduz os sintomas de diabetes em alguns modelos
Reduz hipertensão

Cabe mencionar que o suplemento de CLA usado na maior parte destes estudos é composto basicamente pelos isômeros cis-9 trans-11 e trans-10 cis-12, em proporções similares (40 a 45% de cada). Com o avanço da tecnologia, fontes purificadas destes dois isômeros tornaram-se disponíveis comercialmente, permitindo a avaliação dos efeitos isolados destes compostos. O uso de fontes purificadas de CLA permitiu a identificação do CLA trans-10 cis-12 como o isômero responsável pela inibição da lipogênese, ou seja, pelo efeito antiadipogênico observado nos estudos em que foram utilizados suplementos contendo uma mistura dos dois isômeros. Este efeito isômero-dependente do CLA trans-10 cis-12 sobre a síntese de lipídios foi claramente demonstrado pela infusão de fontes purificadas de ambos os isômeros no abomaso de vacas em lactação (Baumgard et al., 2000; Figura 4).

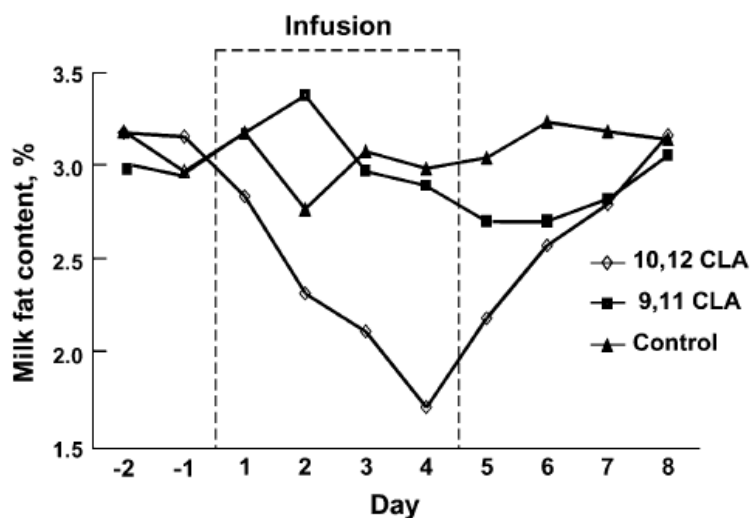


Figura 4: Variação temporal do teor de gordura do leite em resposta à infusão abomasal de CLA cis-9 trans-11 ou CLA trans-10 cis-12 (10g/dia) (Fonte: Baumgard et al., 2000).

O CLA trans-10 cis-12 é formado no rúmen e secretado no leite quando dietas com baixo teor de fibra e ricas em ácidos graxos poliinsaturados são fornecidas aos animais, resultando em queda no teor e na secreção de gordura do leite (Bauman & Griinari, 2003).

Os resultados obtidos em diversos estudos com fontes sintéticas de CLA (purificadas ou não) são apresentados em recente revisão bibliográfica (Bhattacharya et al., 2006). Em geral, os resultados indicam que o CLA cis-9 trans-11 e o CLA trans-10 cis-12 podem agir sinergicamente ou antagonicamente para alterar a função celular e o metabolismo, e as respostas podem variar entre espécies (ex.: ratos e camundongos). Os autores ressaltam ainda a necessidade de se realizar mais estudos para avaliação do efeito do CLA em humanos, de forma a verificar se os efeitos benéficos observados em estudos com animais também se reproduzem em humanos.

Um aspecto importante na avaliação dos efeitos do CLA sobre indicadores de saúde é a fonte de CLA utilizada nos estudos (sintética ou natural). Como ressaltado anteriormente, o principal isômero de CLA encontrado na gordura do leite é o cis-9 trans-11 (75 a 90% do CLA total), ao passo que a concentração de CLA trans-10 cis-12

é geralmente cerca de 1% do CLA total. Como será mostrado mais a seguir nos item 3 e 4 deste artigo, aumentos significativos (> 300%) da concentração de CLA cis-9 trans-11 e de seu precursor (C18:1 trans-11) na gordura do leite podem ser obtidos pela manipulação da dieta dos animais. Isto permite a produção de manteiga e outros derivados lácteos ricos em CLA cis-9 trans-11, os quais podem ser utilizados em estudos com animais e humanos para avaliação do potencial nutracêutico destes alimentos. No primeiro estudo no qual esta fonte natural de CLA foi utilizada, ratos alimentados com dietas contendo 0,8% de CLA total (92% de CLA cis-9 trans-11), proveniente da inclusão de 20% de manteiga rica em CLA na dieta dos animais, apresentaram redução de 50% no risco de câncer mamário (Ip et al., 1999). Posteriormente, este mesmo método de fornecimento de CLA foi avaliado em estudo com hamsters, tendo sido demonstrado que a ingestão de dieta com alto teor de CLA cis-9 trans-11 e C18:1 trans-11 alterou positivamente o perfil das lipoproteínas plasmáticas, o que pode ser associado a um reduzido risco de aterosclerose (Lock et al., 2005). Em estudo com humanos, Burdge et al. (2005) mostraram que o consumo de produtos lácteos (leite, manteiga e queijo) naturalmente ricos em CLA, em quantidades similares às normalmente ingeridas pela população, aumentou a concentração de CLA cis-9 trans-11 no plasma e nos lipídeos celulares. Coletivamente, estes estudos demonstram a viabilidade de se aumentar significativamente a concentração de CLA cis-9 trans-11 (e de seu precursor) nos tecidos humanos por meio da ingestão de produtos lácteos naturalmente ricos em CLA, sem que para isso sejam necessárias alterações no hábito de consumo da população. Os efeitos positivos sobre indicadores de saúde observados em animais precisam, no entanto, serem confirmados em estudos com humanos. Digno de nota, o consumo diário de CLA nos indivíduos que receberam produtos lácteos enriquecidos no estudo de Burdge et al. (2005) foi de 1,43 g/dia, o que estaria acima dos valores mínimos de 0,8 g/dia e 0,25 g/dia, supostamente necessários para promoção dos efeitos preventivos sobre câncer e aterosclerose, respectivamente, em um indivíduo de 70 kg, baseados na extrapolação de resultados obtidos em experimentos com animais, tendo como base o peso metabólico (Gagliostro, 2004).

3. Fatores que afetam o teor de CLA no leite

O perfil de ácidos graxos do leite de ruminantes, incluindo o seu teor de CLA, é influenciado por fatores intrínsecos (espécie, raça, genótipo, ordem de parição e estágio de lactação) e extrínsecos (ambientais). Raça, ordem de parição e estágio da lactação respondem, individualmente, por menos de 2% da variação no teor de CLA do leite (Kesley et al., 2003). Em uma determinada espécie animal, os efeitos associados à raça ou genótipo são significantes, mas de pequena magnitude, podendo somente ser alcançados em longo prazo (Chilliard et al., 2007). A nutrição é o principal fator responsável pela variação no teor de CLA no leite (Chilliard et al., 2001). Assim, a manipulação da dieta dos animais pode ser considerada a prática mais eficaz para se aumentar o teor de CLA no leite, considerando tanto a magnitude quanto a rapidez da resposta. Incrementos significativos no teor de CLA do leite podem ser obtidos pelo fornecimento de forragens frescas e/ou suplementação da dieta com óleos vegetais (Dewhurst et al., 2006; Collomb et al., 2006; Chilliard et al., 2007).

4. Efeito da nutrição sobre o teor de CLA no leite

4.1 Pasto vs. forragem conservada

Diversos estudos têm demonstrado que o fornecimento de pasto aumenta o teor de CLA no leite. Isto tem sido demonstrado quando vacas em lactação mudam de uma dieta completa (TMR) à base de forragens conservadas e grãos para dietas à base de pasto, ou quando a proporção de pasto na dieta aumenta (Santon et al., 1997; Dhiman et al., 1999; Kelly et al., 1998; Bargo et al., 2006; Khanal et al., 2007). Teores médios de CLA cis-9 trans-11 de até 2,5% tem sido observados na gordura do leite de vacas mantidas exclusivamente a pasto, o que representa cerca de 500% de aumento quando comparado aos valores comumente observados em vacas recebendo TMR à base de forragens conservadas e grãos (0,3 a 0,6% CLA). De grande relevância prática, a análise diária do perfil de ácidos graxos do leite no estudo de Khanal et al. (2007) mostrou que o teor de CLA no leite aumenta gradativamente quando a dieta das vacas mudam de TMR para pastagens, atingindo um máximo após 23 dias, ao passo que o nível de CLA retorna aos níveis basais apenas 4 dias após a retirada dos animais do pasto (Figura 5).

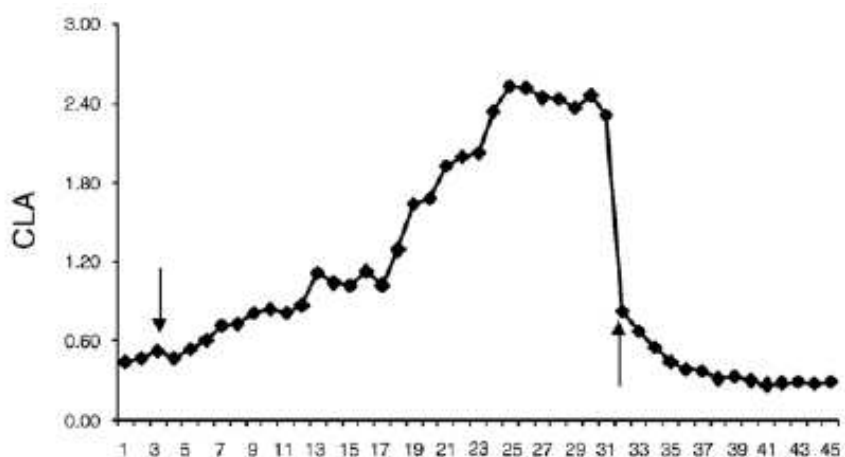


Figura 5: Mudanças diárias no teor de CLA do leite (g/100g) de vacas durante a transição de TMR para pasto (seta para baixo), durante o período de pastejo (entre as setas), e após o retorno para TMR (seta para cima). (Fonte: Khanal et al., 2007).

Artigo recente de revisão mostrou que o teor total de ácidos graxos totais (g/kg de MS) e o teor de ácido α -linolênico são reduzidos com o avanço do estágio de maturação da forragem e com o processo de murchamento (Dewhurst et al., 2006). Além disso, estudo recente (Khan et al., 2009) demonstrou que a exposição da silagem ao ar durante o seu fornecimento reduz o seu teor de ácidos graxos poliinsaturados. Portanto, não é surpresa que ruminantes alimentados com dietas à base de forragens conservadas, ou pastando forragens em estágio avançado de maturação, apresentem menor teor de CLA no leite quando comparados a animais recebendo forragens frescas. Cabe ainda mencionar que o perfil de ácidos graxos pode variar entre as espécies de forrageiras (Clapham et al., 2005; Fernandes et al., 2007) mas há pouca informação disponível sobre o perfil de ácidos graxos de forrageiras tropicais. Portanto, há necessidade da realização de tais estudos, de forma a identificar as espécies e cultivares com maior potencial para aumento do teor de CLA no leite de ruminantes criados em condições tropicais.

4.2. Suplementação da dieta com óleos vegetais

Óleos vegetais de diferentes fontes apresentam diferente perfil de ácidos graxos, resultando em diferentes efeitos sobre o teor de CLA do leite (Collomb et al., 2006). Comparações entre diferentes tipos de óleos sugerem que aqueles ricos em ácido

linoléico (ex.: óleos de soja e girassol) resultam em maior aumento no teor de CLA do leite (Kelly et al., 1998; Dhiman et al., 2000), embora Lock & Garnsworthy (2002) tenham observado que o ácido α -linolênico foi tão eficaz quanto o ácido linoléico. A inclusão de níveis crescentes de óleos ricos em ácido linoléico em dietas completas (TMR) parece aumentar linearmente o teor de CLA no leite (Chilliard et al., 2007; Lopes et al., 2009). Neste último estudo (Lopes et al., 2009), a forragem utilizada foi capim-elefante picado (~50% da MS), e o teor de CLA cis-9 trans-11 no leite de vacas mestiças aumentou de 1,3 para 4,6% quando o teor de óleo de soja na dieta passou de 0 para 4,5% da MS (Tabela 4), indicando o potencial para uso desta forrageira tropical em dietas completas suplementadas com concentrados ricos em ácidos graxos poliinsaturados.

Tabela 4: Concentração de ácidos graxos na gordura do leite de vacas recebendo dietas com diferentes níveis de óleo de soja em dietas a base de capim-elefante (Adaptado de Lopes et al., 2009)

Ácidos graxos	Nível de OS na dieta				CV		
(g/100g de AG totais)	(% MS)				(%)	Efeito ¹	
	0	1,5	3,0	4,5		L	Q
C4:0 to C10:0	8,99	8,42	6,90	5,94	10,1	**	ns
C12:0 to C16:0	44,8	37,7	33,0	29,6	13,6	**	ns
AG de cadeia ímpar	3,44	2,99	2,52	2,17	14,7	**	ns
C18:0	7,78	9,12	9,42	9,94	6,36	**	ns
C18:1 <i>trans</i> -6 to 8	0,23	0,51	0,66	0,88	15,7	**	ns
C18:1 <i>trans</i> -9	0,34	0,52	0,64	0,69	15,3	**	*
C18:1 <i>trans</i> -10	0,43	1,04	1,36	1,52	34,9	**	ns
C18:1 <i>trans</i> -11	2,00	4,24	6,44	9,35	21,0	**	ns
C18:1 <i>trans</i> 12	0,36	0,55	0,72	0,80	13,1	**	ns
C18:1 <i>trans</i> -13 + <i>trans</i> -14	0,50	0,66	0,75	1,18	37,7	**	ns
C18:1 <i>cis</i> -9 + <i>trans</i> -15	20,4	21,8	23,1	22,6	7,61	**	ns
C18:2 <i>cis</i> -9 <i>cis</i> -12	2,29	2,4	2,42	2,40	7,23	ns	ns
C18:3 <i>cis</i> -9 <i>cis</i> -12 <i>cis</i> -15	0,28	0,29	0,26	0,23	20,0	ns	ns
CLA <i>cis</i>-9 <i>trans</i>-11	1,28	2,47	3,74	4,59	18,0	**	ns
CLA <i>trans</i> -9 <i>cis</i> -11	0,02	0,04	0,06	0,08	15,1	**	ns

CLA <i>trans</i> -10 <i>cis</i> -12	<0,01	0,01	0,03	0,03	49,9	**	ns
-------------------------------------	-------	------	------	------	------	----	----

¹ Probabilidade de efeito linear (L) ou quadrático (Q) (*P<0,05; **P<0,01; ns = não significativo)

Aumentos lineares no teor de CLA foram também observados quando níveis crescentes de óleo de linhaça (até 510 g/dia) foram incluídos no concentrado de vacas a pasto, embora a magnitude do aumento tenha sido bem menor (Flowers et al., 2008). Esta baixa eficácia de óleos vegetais em aumentar o teor de CLA do leite de vacas a pasto comparado com TMR foi também observada por Kay et al. (2004), mas a razão para tal resposta não é conhecida.

Outro aspecto importante que afeta a magnitude do aumento de CLA no leite é a forma de fornecimento do óleo na dieta. Em geral, a suplementação com óleos vegetais livres (extraído das sementes) aumenta mais o teor de CLA do que sementes extrusadas, que por sua vez aumentam mais o teor de CLA do que sementes não-processadas (Chilliard et al., 2007).

4.3. Suplementação da dieta com óleos de peixe

Para um mesmo nível de inclusão na dieta, óleos de peixe são ainda mais eficazes do que óleos vegetais em aumentar o teor de CLA no leite (Gama et al., 2008; Loor et al., 2005; Chilliard et al., 2001; Donovan et al., 2000). Este efeito é explicado pela inibição da conversão de ácido vaccênico em C18:0 no rúmen por ação do DHA presente no óleo de peixe (AbuGhazaleh & Jenkins, 2004). Isto explica porque a associação de óleos vegetais com óleo de peixe resulta em níveis de CLA *cis*-9 *trans*-11 no leite superiores aos observados quando estes óleos são fornecidos isoladamente (Murphy et al., 2008; Whitlock et al., 2002). Apesar do pronunciado efeito sobre o teor de CLA no leite, a inclusão de óleo de peixe na dieta de vacas leiteiras reduz bruscamente o teor de gordura do leite (Chilliard et al., 2001; Whitlock et al., 2002; Loor et al., 2005), mesmo em dietas com alto teor de fibra (Gama et al., 2008). Este efeito parece estar associado à formação do CLA *trans*-9 *cis*-11 no rúmen, ao invés do CLA *trans*-10 *cis*-12 formado quando dietas com baixo teor de fibra e alto teor de ácidos graxos poliinsaturados de origem vegetal são fornecidas aos animais (Piperova et al., 2000). Além disso, a suplementação de dietas com óleo de peixe reduz o aporte de

C18:0 para a glândula mamária, resultando em escassez de ácido oléico, o que por sua vez poderia inibir a secreção de gordura do leite devido à dificuldade da glândula mamária em manter a fluidez da gordura do leite (Loor et al., 2005; Gama et al., 2008). Este efeito depressor sobre o teor de gordura do leite pode limitar a viabilidade do uso de óleo de peixe como estratégia nutricional para aumentar o teor de CLA no leite, especialmente em sistemas de pagamento por qualidade, onde o teor de sólidos (gordura e proteína) é utilizado como critério de bonificação.

4.4. Variação temporal no perfil de ácidos graxos do leite

Um aspecto importante quando se considera a inclusão de óleos na dieta como estratégia nutricional para aumento do CLA cis-9 trans-11 no leite é a manutenção de níveis elevados deste isômero ao longo do período de suplementação. Alguns estudos têm demonstrado que o aumento do teor de CLA cis-9 trans-11 no leite pode ser transitório (Shinfield et al., 2006; Roy et al., 2006). Esta resposta está provavelmente associada a adaptações tempo-dependente na biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos poliinsaturados presentes na dieta, o que por sua vez parece variar de acordo com a composição da dieta basal (ex.: relação volumoso/concentrado, fonte de amido) e o tipo de óleo vegetal utilizado (Jurjanz et al., 2004; Roy et al., 2006). Isto demonstra o desafio em desenvolver estratégias nutricionais para a produção de leite com alto teor de CLA cis-9 trans-11 por um longo período. Mais uma vez, cabe aqui mencionar que as alterações temporais no metabolismo ruminal dos ácidos graxos presentes na dieta podem resultar na produção do CLA trans-10 cis-12 ou do CLA trans-9 cis-11, os quais inibem a síntese de gordura do leite (Harvartine et al., 2008).

5. Efeitos concomitantes sobre outros ácidos graxos do leite e suas implicações

Além de aumentar o teor de CLA no leite, especialmente do isômero cis-9 trans-11, a suplementação da dieta com óleos vegetais ou óleo de peixe pode aumentar também o teor de ácidos graxos C18:1 trans e reduzir o teor dos ácidos graxos saturados de cadeia média (C12 a C16). Este segundo efeito é altamente desejável, considerando-se que estes ácidos graxos são considerados hipercolesterolêmicos e, portanto, aumentam o risco do desenvolvimento de aterosclerose (Williams, 2000). Por outro

lado, o aumento do teor de C18:1 trans seria provavelmente desejável se a maior parte deste aumento fosse devida ao isômero C18:1 trans-11, o qual pode ser convertido a CLA cis-9 trans-11 nos tecidos humanos (Turpeinen et al., 2002). Em contrapartida, alimentos ricos em outros isômeros de C18:1 trans, tais como o C18:1 trans-9 e C18:1 trans-10, parecem estar fortemente associados ao aumento do risco de doenças coronárias (Dewhurst et al., 2006). Neste aspecto, o fornecimento de forragens frescas leva vantagem sobre a suplementação com óleos vegetais ou de peixe, pois o aumento do teor de CLA observado geralmente não é acompanhado por aumentos significativos no teor de ácidos graxos trans do leite. Quando o perfil geral de ácidos graxos do leite é considerado, nota-se que há uma redução dos ácidos graxos saturados e aumento concomitante nos teores de ácidos graxos mono e poliinsaturados, o que pode reduzir a estabilidade oxidativa da gordura do leite (Gama et al., 2008, Tabela 5).

Tabela 5: Estabilidade oxidativa e perfil de ácidos graxos (AG) de manteigas oriundas de vacas recebendo dietas à base de capim-elefante suplementadas com diferentes níveis de óleo de soja (OS) (Adaptado de Gama et al., 2008).

Variável	Nível de OS nas dietas (%MS)				CV (%)	Efeito ¹	
	0	1,5	3,0	4,5		L	Q
Estabilidade oxidativa ² (horas)	2,69	2,28	1,74	1,34	17,6	**	ns
AG (g/100g de ácidos graxos totais)							
Saturados	63,6	56,9	50,9	46,8	4,97	**	ns
Monoinsaturados	29,0	34,2	38,5	41,9	10,4	**	ns
Polinsaturados	4,46	5,85	7,20	8,22	5,81	**	ns

¹ Probabilidade de efeito Linear (L) ou Quadrático (Q) (*P<0,05; **P<0,01; ns: não-significativo)

² Medida no RANCIMAT

6. Conclusões

Inúmeros estudos científicos conduzidos nas últimas duas décadas, principalmente com animais e cultura de tecidos, têm demonstrado o potencial nutracêutico do CLA. Como o leite de ruminantes constitui a principal fonte de CLA (especialmente do isômero cis-9 trans-11) na dieta humana, o aumento da sua concentração no leite pode resultar em aumentos expressivos da ingestão de CLA pela população humana. A manipulação da dieta dos animais é forma mais eficaz de se aumentar o teor de CLA no leite, considerando tanto a magnitude quanto a rapidez da resposta observada. Dentre as estratégias nutricionais utilizadas, o fornecimento de

forragens frescas e a suplementação de dietas completas com óleos vegetais e/ou marinhos tem resultado em aumentos significativos no teor de CLA cis-9 trans-11 do leite. Entretanto, este aumento pode ser transitório, de forma que outros isômeros de CLA podem ser formados durante o período de suplementação, os quais podem resultar em queda do teor de gordura do leite. A produção de leite com baixo teor de gordura pode trazer prejuízos econômicos ao produtor, especialmente em sistemas de pagamento por qualidade. Estudos recentes indicam que a proporção de forragem na dieta é um fator importante para manutenção de elevados teores de CLA cis-9 trans-11 no leite em resposta à suplementação com óleos vegetais. Alterações concomitantes nas concentrações de outros ácidos graxos devem ser levadas em consideração quando estratégias nutricionais são utilizadas para aumentar o teor de CLA no leite.

7. Referências bibliográficas

- ABUGHAZALEH, A.A.; SHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acid profile. *Journal of Dairy Science*, v.86, p.3648-3660, 2003.
- BARGO, F.; DELAHOY, J.E.; SCHROEDER, G.F.; BAUMGARD, L.H.; MULLER, L.D. Supplementing total mixed rations with pasture increase the content of CLA in milk. *Animal Feed Science and Tech.*, v.131, p. 226-240, 2006.
- BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A.; GRIINARI, J.M. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proceedings of the American Society of Animal Science*, v.48, p.1-15, 1999.
- BAUMAN, D.E.; CORL, B.; BAUMGARD, L.H.; GRIINARI, J.M. Conjugated linoleic acid (CLA) and the dairy cow. In: *Recent Advances in Animal Nutrition*, Nottingham: PC Garnsworthy, 2001. p.221-250.
- BAUMAN, D.E.; CORL, B.A.; PETERSON, D.G. The biology of conjugated linoleic acids in ruminants. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, v.2, JL Sebedio, 2003. p.1-16.
- 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.
- BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition*, v.23, p.203-227, 2003.
- BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A.; DWYER, D.A.; SAEBO, A.; BAUMAN, D.E. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits fat synthesis. *American Journal Physiology Regulatory Integrative Comparative Physiology*, v.278, p.R179-R184, 2000.

- BELURY, M. 2002. Dietary conjugated linoleic acid in health: Physiological effects and mechanisms of action. *Annu. Rev. Nutr.* 22:505-531.
- BHATTACHARYA, A.; BANU, J.; RAHMAN, M.; CAUSEY, J.; FERNANDES, G. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, Volume 17, Issue 12, Pages 789-810, 2006.
- BURDGE, G.C.; TRICON, S.; MORGAN, R.; KLIEM, K.E.; CHILDS, C.; JONES, E.; RUSSELL, J.J.; GRIMBLE, R.F.; WILLIAMS, C.M.; YAQOOB, P.; CALDER, P.C. Incorporation of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid and vaccenic acid (trans-11 18:1) into plasma and leucocyte lipids in healthy men consuming dairy products naturally enriched in these fatty acids. *British Journal of Nutrition*, v.94, 237-243, 2005.
- CHILLIARD, Y.; CHARDIGNY, J.M.; CHABROT, J.; OLLIER, A.; SÉBÉDIO, J.L.; DUREAL, M. Effects of ruminal or postruminal fish oil supply on conjugated linoleic acid (CLA) content of cow milk fat. *Proceedings of Nutrition Society*, v.58, p.70, 1999.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; DOREAU, M. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science*, v.70, p.31-48, 2001.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; MANSBRIDGE, R.M.; DOREAU, M. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Annales de Zootechnia*, v.49, p.181-205, 2000.
- CHILLIARD, Y.; GLASSER, F.; FERLAY, A.; BERNARD, L.; ROUEL, J.; DOREAU, M. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *Eur. J. Lipid Sci. technol.* v.109, p.828-855, 2007.
- CHIN, S.F.; LIU, W.; STORKSON, J.M.; HA, Y.L.; PARIZA, M.W. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *Journal of Food Composition and Analysis*, v.5, p.185-197, 1992.
- CHOUINARD, P.Y.; CORNEAU, L.; BUTLER, W.R.; CHILLIARD, Y.; DRACKLEY, J.K.; BAUMAN, D.E. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentration in milk fat. *Journal of Dairy Science*, v.84, p.680-690, 2001.
- COLLOMB, M.; SCHMID, A.; SIEBER, R.; WECHSLER, D.; RYHANEN, E. L. 2006. Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. *International Dairy Journal*, v.16, p.1347-1361.
- CORL, B.A.; BAUMGARD L.H.; GRIINARI, J.M.; DELMONTE, P.; MOREHOUSE, K.M.; YURAWECZ, M.P.; BAUMAN, D.E. Trans-7 cis-9 CLA is synthesized endogenously by $\Delta 9$ -dessaturase in dairy cows. *Lipids*, v.37, p.681-688, 2002.
- CORL, B.A.; BAUMGARD L.H.; DWYER D.A.; GRIINARI, J.M.; PHILIPS, B.S.; BAUMAN, D.E. The role of delta-9-dessaturase in the production of cis-9, trans-11. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v.12, p.622-630, 2001.
- CORL, B.A.; CHOUINARD, P.Y.; BAUMAN, D.E.; DWYER, D.A.; GRIINARI, J.M.; NURMELA, K.V. Conjugated linoleic acid in milk fat of dairy cows originates in part by endogenous synthesis from trans-11 octadecenoic acid. *Journal of Dairy Science*, v.81, Suppl.1, p.60, 1998.
- DEWHURST, R.J., SHINGFIELD, K.J., LEE, M.R.F., SCOLLAN, N.D. 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131: 168-206.
- DHIMAN, T.R.; ANAND, G.R.; SATTER, L.D.; PARIZA, M.W. Conjugated linoleic acid

- content of milk from cows fed different diets. *J.Dairy Sci.*, v. 82, p.2146-2156, 1999.
- DONOVAN, D.C.; SCHINGOETHE, D.J.; BAER, R.J.; RYALI, J.; HIPPEL, R.; FRANKLIN, S.T. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.83, p.2620-2628, 2000.
- ELGERSMA, A.; TAMMINGA, S.; ELLEN, G. Modifying milk composition through forage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131: 207-225, 2006.
- FLOWERS, G.; IBRAHIM, S.A.; ABUGHAZALEH, A.A. Milk fatty acid composition of grazing dairy cows when supplementing with linseed oil. *J. Dairy sci.*, v.91, p.722-730, 2008.
- GAGLIOSTRO, G.A. Control nutricional del contenido de ácido linoléico conjugado (CLA) em leche y su presencia em alimentos naturales funcionales. 1. Efectos sobre la salud humana. *Ver. Arg. Prod. Anim.*, v.24, no 3-4, p. 3-36, 2004.
- GAMA, M.A.S.; GARNSWORTHY, P.C.; GRIINARI, J.M., LEME, P.R., RODRIGUES, P.H.M.; SOUZA, L.W.O.; LANNA, D.P.D. Diet-Induced Milk Fat Depression: Association with Changes in Milk Fatty Acid Composition and Fluidity of Milk Fat. *Livestock science*, v.115, issue 2, p.319-331, 2008.
- GAMA, M.A.S.; LOPEZ, F.C.F.; RIGUEIRA, J.C.S.; MENDONÇA, A.C.; Paula, B.M.D.; Glória, M.B.A.; RIBEIRO, M.T.; RIBEIRO, C.G.S.; PEIXOTO, M.G.C.D. Perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa de manteigas oriundas de vacas recebendo dietas com óleo de soja. In: XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belo Horizonte. XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, p. 1-3, 2008.
- GIVENS, D.I.; COTTRILL, B.R.; DAVIES, M.; LEE, P.; MANSBRIDGE, R.; MOSS, A.R. Sources of n-3 polyunsaturated fatty acids additional to fish oil for livestock diets. A review. *Nutrition Abstract Review*, v.70, p.1-19, 2000.
- GRIINARI, J.M.; BAUMAN, D.E. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants, In: *ADVANCES IN CONJUGATED LINOLEIC ACID RESEARCH*, Champaign, 1999. Proceedings. Champaign: AOCS Press, 1999. p.180-200.
- GRIINARI, J.M.; CORI, B.; LACY, S.; CHOUINARD, P.; NURMELA, K.; BAUMAN, D. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by delta-9 desaturase. *Journal of Nutrition*, v.130, p.2285-2291, 2000.
- GRIINARI, J.M.; DWYER, D.A.; MCGUIRE, M.A.; BAUMAN, D.E.; PALMQUIST, D.L.; NURMELA, K.V.V. Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 81, p.1251-1261, 1998.
- HARVATINE, K.J.; BOISCLAIR, Y.R.; BAUMAN, D.E. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal*, p.1-15, 2008.
- IP, C.; BANNI, S.; ANGIONI, E.; CARTA, G.; MCGINLEY, J.; THOMPSON, H.J.; BARBANO, D.; BAUMAN, D. Conjugated Linoleic Acid-Enriched Butter Fat Alters Mammary Gland Morphogenesis and Reduces Cancer Risk in Rats. *Journal of Nutrition*.129:2135-2142, 1999.
- JAHREIS, G.; FRITSCH, J.; STEINHART, H.; Conjugated linoleic acid in milk fat: high variation depends on production system. *Nutrition Research*, v.17, p.1479-1484, 1997.
- JURJANZ S. ; MONTEILS V. ; JUANEDA P. ; LAURENT F. Variations of trans octadecenoic acid in milk fat induced by feeding different starch-based diets to Cows. *Lipids*, vol. 39, n°1, pp. 19-24, 2004.

- KAY, J.K.; MACKLE, T.R.; AULDIST, M.J.; THOMSON, N.A.; BAUMAN, D.E. Endogenous synthesis of cis-9 trans-11 CLA in dairy cows fed fresh pasture. *J. Dairy Sci.*, v.87, p.369-378, 2004.
- KELLY, M.L.; BERRY, J.R.; DWYER, D.A.; GRIINARI, J.M.; CHOUINARD, P.Y.; VAN AMBURGH, M.E.; BAUMAN, D.E. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentration in milk from lactating dairy cows. *Journal of Nutrition*, v.128, p.881-885, 1998.
- KENNELLY, J.J. The fatty acid composition of milk fat as influenced by feeding oilseeds. *Animal Feed Science and Technology*, v.60, p.137-152, 1996.
- KESLEY, J.A.; CORL, B.A.; COLLIER, R.J.; BAUMAN, D.E. 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.
- KHAN, N.A.; CONE, J.W.; HENDRIKS, W.H. Stability of fatty acids in grass and maize silages after exposure to air during the feed out period. *Anim. Feed. Science and Tech.*, v.154, p.183-192, 2009.
- KHANAL, R.C.; DHIMAN, T.R. Biosynthesis of CLA: a Review. *Pakistan Journal of Nutrition*, v.3, p.72-81, 2004.
- KHANAL, R.C.; DHIMAN, T.R.; BOMAN, R.L. Changes in fatty acid composition of milk from lactating cows during transition to and from pasture. *Livestock Science* (2007), doi: 10.1016/j.livsci2007.04.020.
- KRAMER, J.K.G.; CRUZ-HERNANDEZ, C.; DENG, Z.; ZHOU, J.; JAHEIS, G.; DUGAN, M.E.R. Analysis of CLA and trans 18:1 isomers in synthetic and animal products. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.79 (suppl), p.1137S-1145S, 2004.
- LAWSON, R.E.; MOSS, A.R.; GIVENS, D.I. The role of dairy products in supplying CLA to man's diet: a review. *Nutrition Research Reviews*, v.14, p. 153-172, 2001.
- LEE, Y.J.; KLEIN, C.M.; JENKINS, T.C. Tracer studies in cultures of ruminal microorganisms reveal the formation of conjugated double bonds originating from biohydrogenation of ¹³C-labeled linolenic acid. *J. Anim Sci*, v.87, E-Suppl. 2/J/J. *Dairy Sci.*, v.92, E-Suppl.1, 2009.
- LOCK, A.L.; HORNE, C.A.M.; BAUMAN, D.E.; SALTER, A.M. Butter naturally enriched in CLA and vaccenic acid alters tissue fatty acids and improves the plasma lipoprotein profile in cholesterol-fed hamsters. *J. Nutr.*, v.135, p.1934-1939, 2005.
- LOOR, J.J., DOREAU, M., CHARDIGNY, J.M., OLLIER, A., SEBEDIO, J.L., CHILLIARD, Y., 2005. Effects of ruminal or duodenal supply of fish oil on milk fat secretion and profiles of trans-fatty acids and conjugated linoleic acid isomers in dairy cows fed maize silage. *Anim. Feed Sci. Tech.* 199, 227-246.
- LOOR, J.J., FEARLAY, A., OLLIER, A., DOREAU, M., CHILLIARD Y., 2005. Relationship among trans and conjugated fatty acids and bovine milk fat yield due to dietary concentrate and linseed oil. *J. Dairy Sci.* 88, 726-740.
- LOOR, J.J.; CHARDIGNY, J.M.; CHABROT, J.; DOREAU, M.; OLLIER, A.; SEBEDIO, J.L.; CHILLIARD, Y. Trans-fatty acids (tFA), CLA isomers, and milk fat depression (MFD) in dairy cows receiving incremental doses of fish oil. *Journal of Dairy Science*, v.86, Suppl.1; *Journal of Animal Science*, v.81, Suppl.1, p.272, 2003.
- LOPEZ, F.C.F.; RIBEIRO, C.G.S.; RIBEIRO, M.T.; RODRIGUEZ, N.M.; BARBOSA FILHO, H.G.; CASTRO, R.J.C.; BARROS, P.A.V.; GAMA, M.A.S. Milk fatty acid profile from dairy cows fed increasing levels of soybean oil in diets based on tropical forage. In: XIth International Symposium on Ruminant Physiology, Clermont-Ferrand. Ruminant

- physiology: digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, p. 588-589, 2009.
- MURPHY, J.; COAKLEY, M.; STANTON, C. Supplementation of dairy cows with a fish oil containing supplement and sunflower oil to increase the CLA content of milk produced at pasture. *Livestock Science*, Volume 116, Issue 1, Pages 332-337, 2008.
- PARIZA, M.W.; PARK, Y.; COOK, M.E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research*, v.40, p.283-298, 2001.
- PIPEROVA, L.S.; SAMPUGNA, J.; TETER, B.B.; KALSCHEUR, K.F.; YURAWECZ, M.P.; KU, Y.; MOREHOUSE, K.M.; ERDMAN, R.A. Duodenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of cis-9-containing CLA in Lactating dairy cows. *Journal of Nutrition*, v.132, p.1235-1241, 2002.
- PIPEROVA, L.S.; TETER, B.B.; BRUCKENTAL, I.; SAMPUGNA, J.; MILLS, S.T.; YURAWECZ, M.P.; FRITSCH, J.; KU, K.; ERDMAN, R.A. Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat - depressing diet. *Journal of Nutrition*, v.130, p.2568-2574, 2000.
- ROACH, J.A.G.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P.; KRAMER, J.K.G. Chromatographic separation and identification of CLA isomers. *Analytica Chimica Acta*, v.465, p.207-226, 2002.
- ROY, A.; FERLAY, A.; SHINGFIELD, K.J.; CHILLIARD, Y. Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to plant oils in cows given different basal diets, with particular emphasis on trans-C18:1 fatty acids and isomers of conjugated linoleic acid. *Animal Science* (2006), 82:479-492 Cambridge University Press.
- SHINGFIELD, K.J., AHVENJARVI, S., TOIVONEN, V., AROLA, A., NURMELA, K.V.V., HUHTANEN P., GRIINARI, J.M., 2003. Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. *Anim. Sci.* 77, 165-179.
- SHINGFIELD, K.J., REYNOLDS, C.K., HERVÁS, G., GRIINARI, J.M., GRANDISON, A.S., BEEVER, D.E., 2006. Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 714-732.
- SHINGFIELD, K.J., REYNOLDS, C.K., LUPOLI, B., TOIVONEN, V., YURAWECZ, M.P., DELMONTE, P., GRIINARI, J.M., GRANDISON, A.S., BEEVER, D. E., 2005. Effect of forage type and proportion of concentrate in the diet on milk fatty acid composition in cows given sunflower oil and fish oil. *Anim. Sci.* 80, 225-238.
- TURPEINEN, A.M.; MUTANEN, M.; ARO, A.; SALMINEN, I.; BASU, S.; PALMQUIST, D.L.; GRIINARI, J.M. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 76, n°3, p.504-510, 2002.
- WHITLOCK, L.A.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEL, A.R.; KALSCHEUR, R.J.; BAER, R.J.; RAMASWAMY, N.; KASPERSON, K.M. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. *Journal of Dairy Science*, v.85, p.234-243, 2002.
- WILLIAMS, C.M. Dietary fatty acids and human health. *Annales de Zootechnia*, v.49, p.165-180, 2000.
- Referências adicionais:
- CLAPHAM, W.M.; FOSTER, J.G.; NEEL, J.P.S.; FEDDERS, J.M. Fatty Acid Composition of Traditional and Novel Forages. *J. Agric. Food Chem*, v.53, 10068-10073, 2005.

FERNANDES, S. A. A.; MATTOS, W.R.S.; [MATARAZZO, S.V.](#); GAMA, M.A.S.; LANNA, D. P. D.;
ROSSETO, C.V.H. Perfil de ácidos graxos em alimentos de clima tropical utilizados nas dietas
para ruminantes. Boletim de Indústria Animal, v. 64, p. 19-27, 2007