

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SILAGEM DE RESÍDUO DE UVA COMO FONTE DE  
ANTIOXIDANTE EM DIETAS COM ÓLEO DE SOJA PARA  
VACAS LEITEIRAS

Autora: Nadine Woruby Santos  
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos  
Co-orientadora: Daniele Cristina da Silva Kazama

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Abril – 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SILAGEM DE RESÍDUO DE UVA COMO FONTE DE  
ANTIOXIDANTE EM DIETAS COM ÓLEO DE SOJA PARA  
VACAS LEITEIRAS

Autora: Nadine Woruby Santos  
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos  
Co-orientadora: Daniele Cristina da Silva Kazama

"Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de concentração Produção Animal".

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Abril – 2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

S237s Santos, Nadine Woruby  
Silagem de resíduos de uva como fonte de antioxidante em dietas com óleo de soja para vacas leiteiras / Nadine Woruby Santos. -- Maringá, 2011. ii-xi, 62 f. : figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos.  
Co-orientadora: Profa. Dra. Daniele Cristina da Silva Kazama.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2011.

1. Bovino de leite - Comportamento ingestivo. 2. Bovino de leite - Digestibilidade. 3. Bovino de leite - Ácidos graxos. 4. Bovino de leite - Nutrição. 5. Vaca em lactação - Antioxidante. 6. Bovino de leite - resíduo de uva. I. Santos, Geraldo Tadeu dos, orient. II. Kazama, Daniele Cristina da Silva, co-orient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 21.ed. 636.2142



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**SILAGEM DE RESÍDUO DE UVA COMO FONTE  
DE ANTIOXIDANTE EM DIETAS COM ÓLEO  
DE SOJA PARA VACAS LEITEIRAS**

Autora: Nadine Woruby Santos  
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADA em 01 de abril de 2011.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Lúcia Maria Zeoula

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ronaldo Lopes Oliveira

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Geraldo Tadeu  
dos Santos  
(Orientador)

*A verdadeira sabedoria consiste em saber como aumentar o bem estar do mundo.*

*Benjamin Franklin*

À

minha mãe Rosa Woruby Santos, meu amor, minha estrutura, minha amiga  
minha tia Geny Woruby, pelo amor, confiança e amparo

Aos meus irmãos Tiago e Lucas Woruby Santos, pelo amor, amizade e apoio

Ao Nicolas, que torna nossos dias mais alegres

Aos meus parentes e amigos, sempre em orações e incentivo

DEDICO...

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e que me faz crescer em cada oportunidade.

Ao Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos, pela orientação, pela confiança e pelo incentivo a trabalhar com a pesquisa.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Daniele Cristina da Silva Kazama, pela co-orientação, amizade e atenção despendida.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico, pelo apoio financeiro que permitiu o desenvolvimento desse estudo.

À Fundação Araucária, pela concessão da bolsa de estudo.

À Universidade Estadual de Maringá e à Fazenda Experimental de Iguatemi, por terem viabilizado a realização do experimento e do trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPZ), pela valiosa contribuição para minha formação.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paula Pinto, pela valiosa contribuição nas análises.

Aos amigos Paula Adriana Grande, Wallacy Barbacena Rosa do Santos, Ricardo Kazama, Francilaine E. de Marchi, Jakeline Romero, Laudi C. Leite, Fábio F. Figueiroa, Carlos Crispim, pela amizade e auxílio na condução do trabalho. Ao Lucas

Pauli, às bolsistas Carina Galvão e Paula Olivo e demais colegas do grupo de bovinocultura de leite, pela colaboração nos trabalhos a campo e de laboratório.

À Cooperativa Agroindustrial de Rolândia (COROL), pela disponibilidade do resíduo de uva para o experimento.

Aos funcionários do Setor de Bovinocultura de leite da FEI, Vicente Faleiros, Célio Passolongo e demais funcionários que colaboraram na execução do experimento.

Aos funcionários do Laboratório de Análise de Alimentos, Cleusa Volpato, Creuza Azevedo e Hermógenes Augusto, pelo auxílio e paciência nas análises laboratoriais.

Às amigas-irmã Fabiany Marquardt e Ludmila Gomes, pela amizade e carinho. Aos amigos Tiago Junior Pasquetti, Bruna Ponciano, Ivan G. Araújo, Marcio Baliscai, Altair Sofiati, Silvana Teixeira, Paulo Levi, Júlio C. Barreto, pelos momentos de estudos, trabalho e descontração, e pela força nos meus momentos mais difíceis.

A todos àqueles que colaboraram direta ou indiretamente na realização deste trabalho e minha formação.



## BIOGRAFIA

NADINE WORUBY SANTOS, filha de Paulo dos Santos e Rosa Woruby Santos, nasceu em Ponta Grossa, Paraná, no dia 25 de agosto de 1986.

Em julho de 2008, concluiu o curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Em março de 2009, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Bovinocultura de leite.

No dia 1 de abril de 2011, submeteu-se à banca para defesa da dissertação de mestrado.

## ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	viii
ABSTRACT .....	x
INTRODUÇÃO .....	1
LITERATURA CITADA .....	14
OBJETIVO GERAL.....	20
I – Consumo, Digestibilidade Aparente e Parâmetros Sanguíneos de Vacas da Raça Holandesa Alimentadas com Níveis de Silagem de Resíduo de Uva em Dietas com Óleo de Soja	
Resumo .....	21
Abstract .....	22
Introdução .....	23
Material e Métodos .....	24
Resultados e Discussão .....	28
Conclusões .....	35
Literatura Citada.....	36
II – Produção, Qualidade e Estabilidade Oxidativa de Leite de Vacas da Raça Holandesa Alimentadas com Níveis de Silagem de Resíduo de Uva em Dietas com Óleo de Soja	
Resumo .....	40
Abstract .....	41
Introdução .....	42
Material e Métodos .....	43
Resultados e Discussão .....	49
Conclusões .....	58
Literatura Citada.....	59
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do fornecimento da silagem de resíduo de uva sobre os parâmetros: consumo, digestibilidade dos nutrientes, parâmetros sanguíneos e também a produção, composição química e em ácidos graxos, estabilidade oxidativa do leite. Foram utilizadas quatro vacas da raça Holandesa, confinadas, com peso vivo médio de  $504 \pm 26$  kg e  $136 \pm 28$  dias de lactação, distribuídas em um quadrado latino com quatro tratamentos e quatro períodos de 21 dias cada. As dietas estudadas foram: dieta controle com 4% de óleo de soja, dieta com 4% de óleo de soja e 5% de silagem de resíduo de uva, dieta com 4% de óleo de soja e 7,5% de silagem de resíduo de uva, dieta com 4% de óleo de soja e 10% de silagem de resíduo de uva. Foi determinado o consumo de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), carboidratos não fibrosos (CNF). A estimativa da digestibilidade aparente total foi realizada para MS e nutrientes, PB, EE, FDN, FDA e CNF. Realizaram-se coletas de sangue com os animais em jejum para análise da concentração de glicose, triglicerídeos, colesterol total, HDL, LDL e VLDL e ureia. A produção de leite e a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura, densidade foram mensuradas e os componentes do leite, proteína, gordura, lactose, sólidos totais, N-ureico, contagem de células somáticas (CCS) e composição de ácidos graxos. A estabilidade oxidativa do leite foi avaliada por meio de análise de determinação de polifenóis totais, flavonoides, atividade antioxidante e hidroperóxidos dieno conjugados (DC). Foi observado que a silagem de resíduo de uva não alterou a ingestão de MS, MO, PB, FDN, FDA e CNF ( $P > 0,05$ ), entretanto, o fornecimento de dietas contendo esse alimento resultou em maior consumo

de EE ( $P=0,02$ ). A digestibilidade aparente total dos nutrientes foi afetada pelos níveis da silagem de resíduo de uva. A digestibilidade da MS foi reduzida linearmente ( $P=0,02$ ), assim como a MO ( $P=0,03$ ) e PB ( $P=0,03$ ) a partir do nível de 7,5% na MS de resíduo de uva. A digestibilidade do EE foi reduzida linearmente com os níveis de inclusão da silagem de resíduo de uva ( $P=0,02$ ). As dietas estudadas afetaram a digestibilidade de forma linear negativa a FDN ( $P=0,02$ ) e FDA ( $P=0,01$ ) e os resultados mostraram esse efeito com o nível 5% na MS. A digestibilidade dos CNF não foi influenciada pelos tratamentos. Com relação aos parâmetros sanguíneos, as concentrações de glicose, triglicerídeos, colesterol total e frações HDL, LDL, VLDL e ureia não foram afetadas ( $P>0,05$ ) pelas dietas experimentais. Vacas alimentadas com os diferentes níveis de resíduo de uva apresentaram produção de leite igual, assim como produção de leite corrigida para 3,5% de gordura ( $P>0,05$ ). Os componentes do leite não foram alterados, entretanto, houve redução ( $P=0,05$ ) dos teores de N-ureico com os níveis 7,5% e 10% de resíduo de uva na matéria seca. Também não houve efeito ( $P>0,05$ ) dos tratamentos sobre a composição de ácidos graxos individuais e as proporções de ácidos graxos. As concentrações de polifenóis no leite com a inclusão da silagem de resíduo de uva não foram significativas, assim como para o teor de flavonoides ( $P>0,05$ ). O parâmetro de força de redução do leite foi afetado pelas dietas ( $P=0,002$ ) e o nível 10% de resíduo de uva apresentou maior força de redução, no entanto, a maior atividade antioxidante do leite não resultou em menor produção de hidroperóxidos dieno conjugados ( $P>0,05$ ). A silagem de resíduo de uva pode ser utilizada na alimentação de vacas leiteiras porque mantém a produção e qualidade do leite e aumenta a atividade antioxidante.

**Palavras-chave:** Ácidos graxos. Antioxidante. Resíduo de uva. Digestibilidade. Produção de leite.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of feeding grape residue silage on the parameters: intake, nutrients digestibility, blood parameters and also production, chemical composition, fatty acid and oxidative stability of milk. It was used four Holstein cows, confined, average live weight of  $504 \pm 26$  kg and  $136 \pm 28$  days in milk, they were assigned in a Latin square with four treatments and four periods of 21 days each. The diets studied were: control diet with 4% soybean oil, diet with 4% soybean oil and 5% of grape residue silage, diet with 4% soybean oil and 7.5% of grape residue silage, diet with 4% soybean oil and 10% grape residue silage. It was determined the intake of dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), ether extract (EE), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), non-fiber carbohydrates (NFC) . The estimated total apparent digestibility was performed for DM and nutrients, CP, EE, NDF, ADF and NFC. The blood was sampled from animals in starvation for analyzing glucose, triglycerides, total cholesterol, HDL, LDL and VLDL and N-urea. Milk production and milk yield corrected to 3.5% fat and density were measured as the milk components protein, fat, lactose, total solids, N-urea, somatic cell count (SCS) and composition of fatty acids. The oxidative stability of milk was determined by analysis of determination of total polyphenols, flavonoids, antioxidant activity and conjugated diene hydroperoxides (CD). It was observed that the grape residue silage did not alter the intake of DM, OM, NDF, ADF and NFC ( $P>0.05$ ), however, the supply of this food diets resulted in higher EE intake ( $P=0.02$ ). The total apparent digestibility of nutrients was affected by the levels of grape residue silage. DM digestibility was reduced linearly ( $P=0.02$ ) as OM ( $P=0.03$ ) and CP ( $P=0.03$ ) with level of 7.5% DM of grape residue silage. The diets affected the digestibility of the NDF linearly negative ( $P=0.02$ ) and

ADF ( $P=0.01$ ) and the results showed this effect with the 5% level in DM. The digestibility of EE and NFC were not influenced by treatments. Regarding blood parameters, concentrations of glucose, triglycerides, total cholesterol and HDL, LDL, VLDL and urea were not affected ( $P>0.05$ ) by diets. Cows fed with the different levels of grape residue silage showed milk production equally as well as milk production adjusted to 3.5% fat ( $P>0.05$ ). Milk components were not changed, however, there was a decreased ( $P=0.05$ ) in levels of N-urea with diets containing 7.5% and 10% grape residue on dry matter. There was also no effect ( $P>0.05$ ) of treatments on individual fatty acid composition and proportions. The concentrations of polyphenols in milk with the inclusion of grape residue silage were not significant, as the flavonoid content ( $P>0.05$ ). The parameter of power reducing of milk was affected by diet ( $P=0.002$ ) and the level of 10% grape residue silage showed higher power reducing, however, the higher antioxidant activity of milk did not result in lower production of CD ( $P>0.05$ ). Grape residue silage can be used in feed for dairy cows because it keeps the production and milk quality and increases the antioxidant activity.

**Key words:** Antioxidant. Digestibility. Fatty acids. Grape residue. Milk production.

## INTRODUÇÃO

A manipulação de dietas para vacas leiteiras é a forma mais rápida e consistente de alterar a concentração de nutrientes do leite produzido por esses animais. A suplementação com gorduras e óleos na dieta aumenta a ingestão de energia e a produção de leite (Sutton, 1989).

A gordura do leite é produzida caracteristicamente na forma de triacilgliceróis (98%), com ácidos graxos derivados, em parte, de ácidos graxos de cadeia longa da dieta, reserva corporal e síntese microbiana de ácidos graxos (Kennelly et al., 1996). Tipicamente, a gordura do leite é composta por 5% de ácidos graxos poli-insaturados, 25% de ácidos graxos monoinsaturados e 70% de ácidos graxos saturados (Grummer, 1991).

O perfil lipídico do produto final de ruminantes, como leite ou carne, não é o mesmo perfil da dieta pelo fato de microrganismos no rúmen serem sensíveis à presença de ácidos graxos insaturados e, por isso realizam uma série de reações com o intuito de neutralizar esses compostos, a chamada biohidrogenação. No entanto, a proporção com que os ácidos graxos são incorporados à gordura do leite pode ser modificada através da dieta de vacas leiteiras, pela suplementação com óleos vegetais e grãos de oleaginosas (Kennelly et al., 1996). Essas alternativas proporcionam modificação da razão entre ácidos graxos de cadeia curta e longa e o grau de insaturação da gordura.

A sequência de biohidrogenação do ácido linoleico (18:2 *cis*-9, *cis*-12) inicia-se pela hidrólise das ligações ésteres por lipases microbianas, em seguida ocorre isomerização da ligação dupla *cis*-12, produzindo o isômero do ácido linoleico conjugado (CLA) 18:2 *cis*-9, *trans*-11; a segunda reação é a redução a C18:1 *trans*-11. A última etapa é a hidrogenação do isômero C18:1 *trans*-11 a 18:0 (ácido esteárico) que

ocorre de forma mais lenta; portanto, essa reação é limitante na sequência de biohidrogenação de ácidos graxos insaturados e como consequência, o intermediário C18:1 *trans*-11 acumula, torna-se mais disponível para absorção (Bauman et al., 1999).

O intermediário C18:1 *trans*-11 é um precursor da síntese endógena de CLA na gordura do leite, produzido por dessaturação pela estearoil-CoA dessaturase ( $\Delta^9$ -dessaturase), um complexo enzimático importante na modificação da composição de ácidos graxos na gordura do leite. Sua principal atividade é converter ácido esteárico (18:0) em ácido oleico (cis-9 18:1), ácido palmítico (16:0) em ácido palmitoleico (16:1 cis-9), além da formação do CLA (Palmquist & Mattos, 2006). A manipulação da dieta que resulta em aumento de ácidos graxos C18:0 e C18:1 em detrimento do C14:0 e C16:0 é considerada desejável do ponto de vista da saúde humana e também oferece a vantagem adicional de produzir uma manteiga fácil de ser espalhada (Kennelly et al., 1996).

O termo CLA refere-se a um grupo de isômeros posicionais e geométricos dieno conjugados do ácido linoleico, encontrados em produtos de ruminantes (Choi & Song, 2005). Os efeitos do CLA na saúde têm sido muito estudados e resultados mostram ação de inibição da carcinogênese (Rainer & Heiss, 2004), regressão de arteriosclerose estabelecida e efeitos antidiabéticos (Bhattacharya et al., 2006), melhora na mineralização óssea sugerindo atenuação da perda óssea pós-menopausa (Cook & Pariza, 1998), melhora da resposta imune e diminuição do acúmulo de gordura (Pariza et al., 2001).

O uso de óleos vegetais e grãos de oleaginosas na alimentação de vacas leiteiras é uma ferramenta eficaz na incorporação de ácidos graxos mono e poli-insaturados na gordura do leite e redução na concentração dos ácidos graxos saturados (Loor et al., 2005; Eifert et al., 2006; Neves et al., 2007; Silva et al., 2007 e Neves et al., 2009). Quando fontes de lipídios como óleo de soja e grãos de soja são incluídas em dietas com mesmo nível de extrato etéreo (7%), o óleo resulta em concentrações mais altas de CLA na gordura do leite (Santos et al., 2001). Os óleos vegetais exercem muita influência nas concentrações de ácidos graxos na gordura do leite porque seus efeitos na fermentação ruminal são mais marcantes em relação aos grãos de oleaginosas, porque estas apresentam lipídios associados à matriz proteica com menor contato com os microrganismos, como um tipo de gordura protegida (Byers & Schelling, 1989).



A produção de leite com maior proporção em ácidos graxos insaturados da gordura altera sua suscetibilidade à deterioração. O processo de oxidação no leite resulta na produção de aroma e sabor desagradáveis e reduz a aceitabilidade de produtos lácteos pelo consumidor (Timmons et al., 2001). Granelli et al. (1998) associam a razão para a ocorrência de sabor oxidado do leite a maior proporção do ácido graxo 18:1*trans* e 18:2, e baixa razão entre antioxidantes e ácidos graxos insaturados.

A produção de leite com melhor perfil de gordura representa uma conquista para a saúde humana, mas esse aspecto envolve a necessidade de mais estudos no sentido de preservar essa gordura. Ashes et al. (1997) afirmam que a presença de compostos antioxidantes no leite é uma forma eficaz de prevenir a oxidação dos ácidos graxos e desenvolvimento de sabor oxidado, permanecendo maior tempo próprio para consumo.

### **Oxidação de lipídios no leite**

O leite é composto de diversas substâncias, como proteínas, lipídios, vitaminas e minerais arranjados de maneira complexa. Os glóbulos de gordura do leite são intimamente relacionados com proteínas em micelas, responsáveis por sua estabilidade em um tipo natural de emulsão óleo em água.

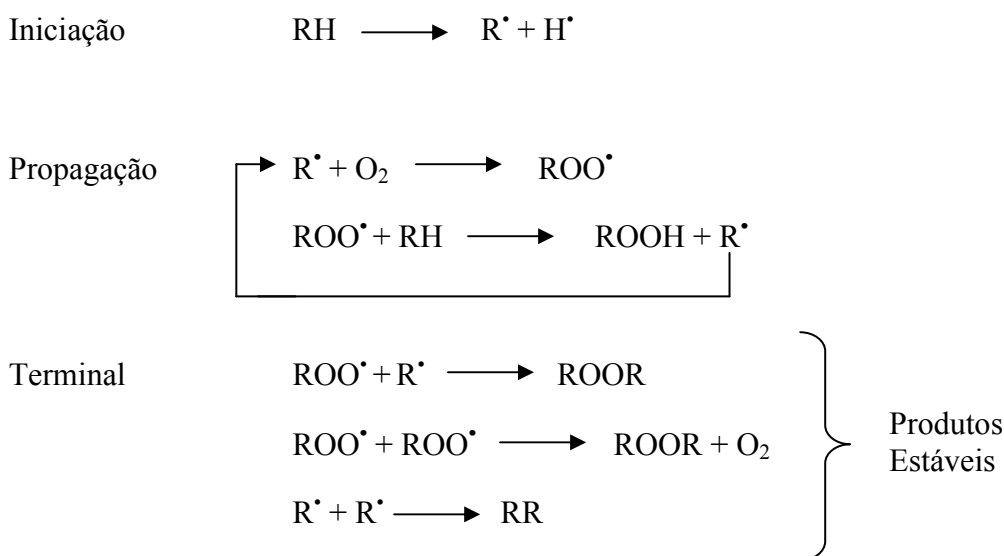
A oxidação de lipídios em emulsões é complexa e pode incluir oxidação ou transferência de elétrons em todas as diferentes fases do sistema. Os mecanismos de oxidação lipídica em emulsões são mais complicados que em sistemas em óleo (Jacobsen et al., 2008).

O termo oxidação de lipídios se refere a uma série de reações químicas, envolvendo ácidos graxos insaturados e oxigênio. Essas reações são divididas em fases: inicial, de propagação e terminal. As reações de auto-oxidação de lipídios no leite, assim como outros alimentos, são relacionadas com a composição de ácidos graxos, concentração de oxigênio, calor, luz, presença de íons metálicos e antioxidantes (Min, 1998).

A reação inicial ocorre quando o átomo de hidrogênio é removido do grupo metileno (próximo à insaturação) do ácido graxo insaturado, formando radical livre (R•). Essa reação ocorre por ação de catalisadores, ou seja, da interação do oxigênio com alguma fonte externa de energia (luz, calor, íons metálicos). Formado o radical livre, este reage com oxigênio para formar o radical peroxil, os quais são altamente

reativos, capazes de remover átomos de hidrogênio de outros ácidos graxos insaturados, originando a propagação da oxidação (Araújo, 2008).

A reação terminal ocorre com a interação de dois radicais livres formando um não radical, finalizando sua participação na reação. O processo auto-oxidativo dividido em fases segue o modelo proposto por Frankel (1980):



Em que: RH – Ácido graxo insaturado;  $R^{\bullet}$  – Radical livre;  $ROO^{\bullet}$  – Radical peróxido e  $ROOH$  – hidroperóxido.

Durante a oxidação de lipídios, ocorre a produção de peróxidos e sua decomposição forma compostos voláteis como ésteres, aldeídos, álcoois, cetonas, lactonas e hidrocarbonetos (Min, 1998); responsáveis pelo sabor oxidado indesejável nos alimentos.

Os radicais livres são substâncias químicas que apresentam número ímpar de elétrons, portanto altamente energéticos e instáveis formados por ação direta de uma fonte externa de energia. A transferência de sua energia ocorre para átomos vizinhos, principalmente para ácidos graxos insaturados, produzindo mais radicais livres. Os radicais livres envolvidos na iniciação e propagação da oxidação são hidroperoxil ( $HOO^{\bullet}$ ), peroxil ( $ROO^{\bullet}$ ), hidroxil ( $HO^{\bullet}$ ), alcoxil ( $RO^{\bullet}$ ) e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ).

Os radicais livres são formados também nas células vivas durante o metabolismo normal, como subprodutos da respiração e síntese de estruturas complexas. São

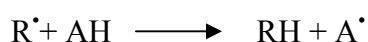
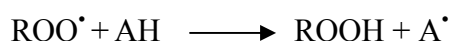
essenciais para produção de energia, sinalização química, destoxificação e função imune, com produção contínua no organismo. Quando a formação dos radicais livres se torna excessiva ou quando o mecanismo antioxidante de defesa se apresenta ineficiente, essas espécies podem causar danos ao DNA, lipídios de membrana e proteínas (Araújo, 2008).

Nas vacas em produção, radicais livres não efetivamente removidos podem prejudicar a saúde com danos a importantes lipídios e macromoléculas, e também modificar vias metabólicas, resultando em fisiologia alterada e patologia (Miller et al., 1993).

### **Mecanismo de ação de antioxidantes**

Um antioxidante é a substância que, presente em baixa concentração quando comparada ao substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz (Sies & Stahl, 1995). São classificados em primários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos (Ramalho & Jorge, 2006).

Os antioxidantes auxiliam na proteção à oxidação pela inativação de radicais livres formados na oxidação, na complexação de íons metálicos ou na redução dos hidroperóxidos para produtos incapazes de formarem radicais livres e produtos de decomposição rançosos (Araújo, 2008). Segundo Ramalho & Jorge (2006), o átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é abstraído pelos radicais livres ( $R\cdot$  e  $ROO\cdot$ ) com maior facilidade que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Assim se formam espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte ( $A\cdot$ ) procedente do antioxidante. Este radical estabilizado não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas. Frankel (1980) apresentou o seguinte mecanismo de ação de antioxidantes primários:



Em que:  $ROO\cdot$  e  $R\cdot$  - radicais livres; AH – antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e  $A\cdot$  – radical inerte.

A inibição completa da oxidação não é possível, mas pode retardar essa transformação por certo tempo. A proteção se dá para lipídios, mas também para carotenoides, vitaminas e outros ingredientes insaturados (Araújo, 2008). Do ponto de vista da saúde, a ingestão de alimentos ricos em antioxidantes é importante para ação sinérgica destes com o mecanismo de defesa endógeno (superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase, urato) na remoção de radicais livres em excesso no organismo.

Os polifenóis são metabólitos secundários de plantas e possuem função de defesa contra a radiação ultravioleta ou agressão por patógenos. Esses compostos podem ser classificados em diferentes grupos em função do número de anéis fenólicos e dos elementos estruturais que ligam estes anéis uns aos outros (Figura 1); são divididos nas classes: ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos e lignanas (Manach et al., 2004). Esses compostos são responsáveis pela maior parte das características organolépticas dos alimentos e bebidas, particularmente as propriedades de cor e sabor (Cheynier, 2005).

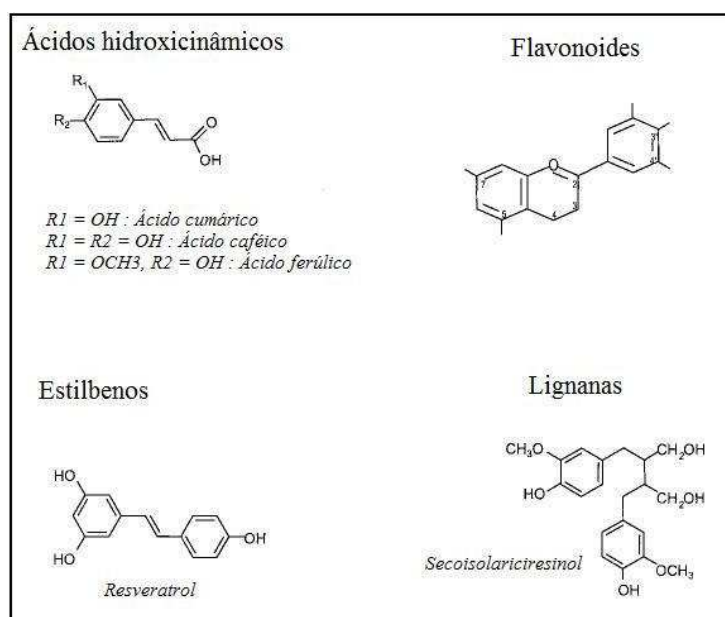


FIGURA 1. Estrutura química dos polifenóis  
Fonte: Manach et al. (2004).

A uva (*Vitis sp.*) tem sido extensivamente caracterizada quanto aos teores de compostos antioxidantes (Negro et al., 2003; Montealegre et al., 2006; Llobera & Cañellas, 2007; Soares et al., 2008), assim como seus produtos derivados como sucos e vinhos (Malacrida & Motta, 2005; Hogan et al., 2009). O consumo de vinho tinto é

associado a efeitos como atenuação de aterosclerose, diminuição do colesterol e triglicérido sanguíneos, com maior capacidade antioxidante no sangue (Auger et al., 2002); e o resveratrol a diminuição da progressão do câncer de mama (Lu & Serrero, 1999; Brownson et al., 2002). Os polifenóis da uva são as antocianinas, flavonóis, ácidos hidroxicinâmicos, e flavanóis incluindo catequinas e proantocianidinas (Cheynier, 2005).

Ishimoto (2008) alimentou cobaias com resíduo de uva da produção de suco e vinho, em dietas hipercolesterolêmicas e observou melhora no perfil lipídico sanguíneo e atividade da enzima catalase. Realizou também análise sensorial com produtos à base de resíduo de uva e concluiu que este possui potencial biológico e sensorial para ser utilizado como ingrediente funcional na alimentação humana.

Um estudo foi realizado por Makris et al. (2007) com o objetivo de caracterização de compostos e atividade antioxidante do resíduo de uva e outros resíduos agroindustriais. Os autores relataram que as sementes de uva, hastes, cascas e resíduo de uva tinta em si, são fontes muito ricas de compostos fenólicos antioxidantes (10.330, 5.798, 3.625, 5.402 mg equivalentes ácido gálico/100g peso seco, respectivamente), e significativamente maiores que outros resíduos, tais como da cebola, maçã, batata. A eficiência antioxidante foi altamente correlacionada com o teor de flavonóis (catequina e epicatequina) e proantocianidinas, especialmente em sementes. Com esses resultados, os autores sugerem maiores estudos visando implementar técnicas de exploração industrial do produto.

Cataneo et al. (2008) também sugerem a utilização do resíduo da produção de vinho como fonte alternativa de compostos fenólicos que possuem significativa capacidade antioxidante.

Os compostos fenólicos presentes na uva são antioxidantes primários que atuam competindo com o substrato (lipídio insaturado) pelo radical livre, normalmente o lipídio presente em concentrações elevadas. O antioxidante transfere átomos de hidrogênio para o radical peroxil, em seguida são formados radicais livres oriundos das moléculas do antioxidante (fenoxil), mas a estrutura destes é estável e não possuem energia suficiente para reagir com o lipídio (Araújo, 2008).

## **Antioxidantes no leite**

O leite apresenta naturalmente mecanismos de prevenção contra oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados, com perfil lipídico típico. Os compostos antioxidantes incluem as enzimas superóxido dismutase, catalase, glutatona peroxidase, proteína como a lactoferrina e vitaminas antioxidantes como as vitaminas E, A e C, dependendo da alimentação das vacas (Lindmark-Mansson & Akesson, 2000).

Estudos já foram realizados no intuito de melhorar a estabilidade oxidativa do leite com perfil lipídico modificado. Atwal et al. (1991) alimentaram vacas da raça Holandesa confinadas com 4% de óleo de canola tratado com formalina associado a 400 UI/kg de matéria seca de vitamina E (acetato de dl- $\alpha$ -tocoferol) e observaram aumento no teor de ácidos graxos C18, saturados e insaturados. A suplementação com vitamina E aumentou sua concentração no leite e melhorou a estabilidade oxidativa do leite.

King et al. (1998) estudaram a incorporação de flavonoides no leite de vacas através da alimentação. Nesse trabalho foi identificada a presença de isoflavonas no leite de vacas mantidas em sistema de pastejo com trevo, no entanto, a transferência reportada foi baixa, que proporciona pouca significância biológica para humanos.

Weiss (2001) realizou estudos sobre o desenvolvimento de sabor oxidado no leite de vacas alimentadas com grãos de soja tostados e suplementação dietética de vitamina C e não obteve aumento significativo da concentração do antioxidante no leite. Também observou que há um limite fisiológico de secreção da vitamina pela glândula mamária.

O tipo de volumoso utilizado para a alimentação de vacas leiteiras pode afetar o conteúdo de pró-oxidantes e antioxidantes no leite, com influência na estabilidade oxidativa do leite e produtos lácteos. Vacas alimentadas com silagem de gramíneas produzem leite com maior proporção de ácido linolênico e concentrações de  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno, em relação a silagem de milho (Havemose et al., 2004). Do mesmo modo, há maior concentração de ácido linolênico e antioxidantes no leite se fornecido às vacas silagem de trevo quando comparado com feno (Havemose et al., 2006).

Slots et al. (2007) demonstraram a transferência de antioxidantes para o leite pela alimentação das vacas com soja tostada e  $\alpha$ -tocoferol. A dieta fornecida àqueles animais continha 8,1% de soja tostada como fonte de óleo, a suplementação dietética com 3.400 UI de  $\alpha$ -tocoferol aumentou 29% a concentração do antioxidante no leite, mas em

condições de estresse oxidativo em que há presença de cobre, exposição à luz e alto teor de ácidos graxos insaturados, o antioxidante não atuou na proteção contra oxidação, pelo contrário, acelerou o processo no leite.

Recentemente estudos mostram ser possível a transferência de antioxidantes polifenólicos para o leite quando vacas são alimentadas com a fonte desses compostos. Petit et al. (2009) suplementaram vacas leiteiras com 20% de casca de linhaça na matéria seca e verificaram aumento na concentração de enterolactona, lignana mamífera oriunda de lignana vegetal da casca de linhaça, no leite. Os autores também observaram diminuição nos teores de ácidos graxos de cadeia curta e média e aumento nos teores de ácidos graxos *trans*, monoinsaturados e poli-insaturados.

Em geral, os polifenóis são antioxidantes solúveis em água, portanto, atuam na região aquosa e de interface óleo/água no leite, local de concentração dos iniciadores de oxidação de lipídios, como íons metálicos e peróxidos (Araújo, 2008).

Cornell et al. (1970) afirmam que antioxidantes apresentam ação efetiva quando presentes em alimentos de um único componente, mas seu desempenho pode ser insatisfatório em sistemas heterogêneos.

A refrigeração ou congelamento do leite e outros alimentos diminuem, mas não paralisam a oxidação lipídica em razão da solubilidade do oxigênio em solução aquosa aumentar em baixas temperaturas (Araújo, 2008).

A oxidação no leite é função da concentração de antioxidantes, pró-oxidantes e substrato oxidável; o cobre é um pró-oxidante e ácidos graxos insaturados são substratos oxidáveis (Timmons et al., 2001). Primeiramente, o cobre se liga à caseína, no entanto, ele pode migrar para a fase de gordura quando o leite é aquecido, por exemplo, na pasteurização. O acúmulo de cobre reduzido em estreita associação com ácidos graxos insaturados na membrana do glóbulo de gordura aumenta o desenvolvimento de sabor oxidado espontâneo. A concentração de cobre no leite está relacionada com aquela presente na dieta das vacas e na água de lavagem nos sistemas de ordenha.

Araújo (2008) relata que o meio mais efetivo de retardar a oxidação de lipídios em emulsões óleo em água é a incorporação de antioxidantes que funcionam por diferentes mecanismos, incluindo o controle da oxidação dos substratos, controle dos pró-oxidantes e inativação de radicais livres. Assim, a utilização de mistura sinérgica de antioxidantes polares como polifenóis e antioxidantes não polares, exemplo vitamina E,

pode contribuir para proteção dos lipídios insaturados através da ação direta em fase aquosa e nos glóbulos de gordura do leite, respectivamente. Por exemplo, Nicholson et al. (1991) sugerem que a vitamina E seja incorporada na membrana do glóbulo de gordura e atue no controle de elétrons, combatendo a atividade de cátions di-valentes (cobre e ferro), que catalisam a oxidação espontânea do leite.

Em virtude da natureza da gordura formar micelas com a proteína do leite, fatores que afetem a integridade estrutural proteica podem influenciar negativamente a estabilidade oxidativa da gordura. A alteração da acidez e equilíbrio salino do meio causa a desintegração das submicelas de caseína (Walstra, 1990), expondo os ácidos graxos à ação dos compostos pró-oxidantes presentes na fase aquosa do leite.

### **Metabolismo de compostos fenólicos**

Os polifenóis são presentes nos alimentos sob a forma de ésteres, glicosídeos ou polímeros e quando consumidos não podem ser absorvidos na forma nativa. Essas substâncias devem ser hidrolisadas por enzimas intestinais ou microbianas em agliconas para absorção. Durante o mesmo processo, os polifenóis são conjugados no intestino delgado e depois no fígado, essas reações incluem metilação, sulfatação e glucuronidação; que consistem, por sua vez, em uma desintoxicação metabólica comum a muitos xenobióticos e restringem seus potenciais efeitos tóxicos, com facilitação da eliminação biliar e urinária. Os metabólitos conjugados circulantes são transportados ligados à albumina (Manach et al., 2004).

Em ruminantes, o processo de fermentação ocorre primeiro no rúmen ao contrário de animais não ruminantes, em que ocorre no cólon. Segundo Côrtes et al. (2008), a microbiota ruminal secreta glicosidases atuantes na hidrólise da lignana vegetal e metabolismo em lignana mamífera. Gagnon et al. (2009) também demonstraram a importante função do rúmen no metabolismo de compostos fenólicos da classe das lignanas vegetais, provenientes da casca de linhaça, em lignanas mamíferas. Os microrganismos ruminais efetuam reações de hidrólise e conjugação desses compostos, facilitando a absorção no rúmen. Segundo os autores, animais com produtos de linhaça (casca e óleo) administrados no rúmen apresentaram aumento de dezesseis vezes a concentração de lignanas mamíferas no leite em relação aos animais que receberam os



produtos diretamente no abomaso; portanto, esses compostos podem se acumular na glândula mamária ao longo do tempo e concentrar no leite.

### **Resíduo de uva na alimentação de ruminantes**

O resíduo de uva é o material resultante da prensagem de uvas, composto por cascas e sementes, o qual é produzido em grande quantidade nas regiões vinícolas. Apesar de ser biodegradável, o resíduo de uva necessita de tempo para ser mineralizado, constituindo-se em fonte potencial de poluentes para o meio ambiente (Cataneo et al., 2008). Os produtores o utilizam como adubo nos próprios parreirais e o restante é queimado (Embrapa, 2004).

Em regiões tradicionalmente produtoras de vinho, a utilização do resíduo de uva na alimentação de animais é comum pelo seu baixo custo e representa alternativa alimentar para reduzir os efeitos da estacionalidade de produção forrageira na produção animal.

A secagem e ensilagem são os métodos mais comuns de preservação do alimento em razão de seu teor de umidade. O resíduo resultante da produção de vinho apresenta, em média, 48% de matéria seca (MS) e teores em nutrientes de 16,44% de proteína bruta (PB), 51,20% de fibra em detergente neutro (FDN), 11,24% de extrato etéreo (EE) e 3,72% de matéria mineral (MM) (Santos et al., 2010), com 41,66% de digestibilidade “in vitro” da matéria seca, 28,12% de digestibilidade “in vitro” da proteína bruta e 64,46% de digestibilidade “in vitro” da FDN (Grande et al., 2010).

O resíduo de uva é incluído na fração volumosa da dieta em razão dos elevados teores de fibra. O conteúdo de lignina reportado é alto, 22,87% (Tosto et al., 2007), 22% (Barroso et al., 2006), 26% (Baumgärtel et al., 2006), possivelmente presente em maior proporção na semente (49,81%) do que na casca (20,94%), como observaram Nörnberg et al. (2002). Segundo Pirmohammadi et al. (2007) o resíduo de uva seco apresenta maior degradabilidade efetiva da MS (35,9%) em relação ao resíduo ensilado (22,9%) pelo consumo parcial de carboidratos solúveis por bactérias fermentativas durante a ensilagem.

O resíduo de uva pode ser única fonte de volumoso na dieta de ovinos, quando associado com concentrados energéticos como milho moído, raspa de mandioca e farelo de palma, não comprometendo o consumo na proporção 50% volumoso; no entanto, a

digestibilidade é reduzida, possivelmente em virtude do alto teor de lignina do alimento (Barroso et al., 2006).

Trabalhos foram conduzidos visando avaliar a digestibilidade do resíduo de uva com ovinos, por Baumgärtel et al. (2007). Segundo os autores, o resíduo de uva de variedades tintas é bem consumido, mas sua inclusão em 30% na matéria seca da dieta resulta em redução na digestibilidade da MS, MO, PB, FDN, FDA, com exceção do EE. A inclusão do alimento na dieta pode resultar em diminuição na digestibilidade da proteína por se tratar de alimento rico em taninos; esses possuem capacidade de ligação às proteínas e formação de complexos, reduzindo sua disponibilidade para digestão e absorção. O resíduo de uva também apresenta altos teores de lignina presentes, principalmente, na semente e podem ser responsáveis pela diminuição da digestibilidade dos nutrientes.

Zalikarenab et al. (2007) incluíram resíduo de uva branca e tinta na dieta de ovinos em substituição à alfafa e também observaram diminuição no coeficiente de digestibilidade da MS e MO, e de todos os nutrientes (PB, FDN e energia metabolizável), sobretudo àqueles referentes ao resíduo de uva tinta; os autores relacionaram a baixa digestibilidade da PB aos altos teores de compostos fenólicos ( $25,6\text{g kg}^{-1}$  MS) e taninos ( $20,2\text{g kg}^{-1}$  MS).

Após a prensagem para obtenção do suco para produção de vinho, as sementes resultantes ainda podem ser utilizadas para obtenção de óleo. O resíduo desse último processo, o farelo de semente de uva, foi a matéria-prima avaliada por Cottyn et al. (1981) na alimentação de novilhos. Os autores obtiveram resultados em consumo e ganho de peso semelhantes a alimentos normalmente utilizados para esses animais. Mas quando adicionaram 4% de hidróxido de sódio ao farelo, animais alimentados com 10% do farelo apresentaram ganho diário semelhante à dieta controle, mas menor eficiência de conversão alimentar, porque o consumo de MS foi menor e digestibilidade aparente da MO de 27%.

Bahrami et al. (2010) avaliaram o resíduo de uva na forma seca sobre o desempenho, ingestão de matéria seca (IMS) e digestibilidade de cordeiros em engorda. Com dietas experimentais contendo 0%, 5%, 10%, 15% e 20% de resíduo de uva seca na MS, relataram aumento na digestibilidade da MS, MO, PB, FDN das dietas com o aumento do conteúdo de resíduo, com melhores valores observados no tratamento com

10% de resíduo de uva. Níveis de inclusão acima de 10% diminuíram a IMS, o ganho médio diário e peso final.

## LITERATURA CITADA

- ARAÚJO, J.M.A. Oxidação de lipídios em alimentos. In: **Química de Alimentos**. UFV: 2008. p.16-122.
- ASHES, J.R.; GULATI, S.K.; SCOTT, T.W. Potential to Alter the Content and Composition of Milk Fat through Nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2204–2212, 1997.
- ATWAL, A.S.; HIDIROGLOU, M.; KRAMER, J.K.G. Effects of Feeding Protect® and  $\alpha$ -Tocopherol on Fatty Acid Composition and Oxidative Stability of Cow's Milk. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.140-145, 1991.
- AUGER, C.; CAPORICCIO, B.; LANDRAULT, N.; et al. Red Wine Phenolic Compounds Reduce Plasma Lipids and Apolipoprotein B and Prevent Early Aortic Atherosclerosis in Hypercholesterolemic Golden Syrian Hamsters (*Mesocricetus auratus*). **Journal of Nutrition**, v.132, p.1207–1213, 2002.
- BAHRAMI, Y.; FOROOZANDEH, A.; ZAMANI, F.; et al. Effect of diet with varying levels of dried grape pomace on dry matter digestibility and growth performance of male lambs. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v.6, p.605-610, 2010.
- BARROSO, D.D.; ARAÚJO, G.G.L.; SILVA, D.S.; MEDINA, F.T. Resíduo desidratado de vitivinícolas associado a diferentes fontes energéticas na alimentação de ovinos: consumo e digestibilidade aparente. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, p. 767-773, 2006.
- 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.
- BAUMGÄRTEL, T.; KLUTH, H.; EPPERLEIN, K.; RODEHUTSCORD, M. A note on digestibility and energy value for sheep of different grape pomace. **Small Ruminant Research**, v.67, p.302-306, 2007.
- BHATTACHARYA, A.; BANU, J.; RAHMAN, J.C.; FERNANDES, G. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.17, p.789-810, 2006.

- BROWNSON, D.M.; AZIOS, N.G.; FUQUA, B.K.; et al. Flavonoid Effects Relevant to Cancer. **Journal of Nutrition**, v.132, p. 3482-3489, 2002.
- BYERS, F.M., SCHELLING, G.T. Lipids in ruminant nutrition. In: CHURCH, D.C. **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. New Jersey: A Reston Book. p.298-312, 1989.
- CATANEO, C.B.; CALIARI, V.; GONZAGA, L.V.; et al. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina: Ciências Agrárias**, v.29, p. 93-102, 2008.
- CHEYNIER V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.81, p.223-229, 2005.
- CHOI, J.S.; SONG, J. Conjugated linoleic acid, obesity, and insulin resistance: waiting for the day of the liberation from chronic disease. **Nutrition**, v.21, p.1170-1172, 2005.
- COOK, M.E.; PARIZA, M. The Role of Conjugated Linoleic Acid (CLA) in Health. **Dairy Journal**, v.8, p.459-462, 1998.
- CORNELL, D.G.; DE VILBISS, E.D.; PALLANSCH, M.J. Binding of Antioxidants by Milk Proteins. **Journal of Dairy Science**, v.54, p.635-637, 1970.
- CÔRTEZ, C.; GAGNON, N.; BENCHAAAR, C.; et al. *In vitro* metabolism of flax lignans by ruminal and faecal microbiota of dairy cows. **Journal of Applied Microbiology**, v.105, p.1585-1594, 2008.
- COTTYN, B.G.; BOUQUE, C.V.; AERTS, J.V.; BUYASSE, F.X. NaOH-treated grape seed oil meal in complete diets for intensive bull beef production. **Agriculture and Environment**, v.6, p.283-294, 1981.
- EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LANNA, D.P.D; et al. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e monensina no início da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.219-228, 2006.
- EMBRAPA. Engorda de ovinos com resíduo de uva processada para vinho. **A Lavoura**, v.651, p.25-26, 2004.
- FRANKEL, E.N. Lipid Oxidation. **Progress in Lipid Research**, v.19. p. 1-22, 1980.
- GAGNON, N.; CÔRTEZ, C.; SILVA, D.; et al. Ruminal metabolism of flaxseed (*Linum usitatissimum*) lignans to the mammalian lignan enterolactone and its concentration in ruminal fluid, plasma, urine and milk of dairy cows. **British Journal of Nutrition**, v.102, p.1015-1023, 2009.

- GRANDE, P.A.; SANTOS, N.W.; SANTOS, G.T.; et al. Digestibilidade *in vitro* da silagem de bagaço de uva com diferentes níveis de uréia e dias de ensilagem. In: 47 reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010, Salvador. **Anais...** 47 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010.
- GRANELLI, K.; BARREFORS, P.; BJÖRCK, L.; APPELQVIST, L.A. Further Studies on Lipid Composition of Bovine Milk in Relation to Spontaneous Oxidised Flavour. **Journal of Science Food and Agriculture**, v.77, p.161-171, 1998.
- HAVEMOSE, M.S.; WEISBJERG, M.R.; BREDIE, W.L.P.; NIELSEN, J.H. Influence of feeding different types of roughage on the oxidative stability of milk. **International Dairy Journal**, v.14, p.563-570, 2004.
- HAVEMOSE, M.S.; WEISBJERG, M.R.; BREDIE, W.L.P.; et al. Oxidative Stability of Milk Influenced by Fatty Acids, Antioxidants, and Copper Derived from Feed. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.1970–1980, 2006.
- HOGAN, S.; ZHANG, L.; LI, J.; et al. Antioxidant properties and bioactive components of Norton (*Vitis aestivalis*) and Cabernet Franc (*Vitis vinifera*) wine grapes. **Food Science and Technology**, v.42, p.1269–1274, 2009.
- ISHIMOTO, E.Y. **Efeito hipolipemiante e antioxidante de subprodutos da uva em hamsters**. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública-Universidade de São Paulo, 2008. 195p. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública-Universidade de São Paulo, 2008.
- JACOBSEN, C.; LET, M.B.; NIELSEN, N.S.; MEYER, A.S. Antioxidant strategies for preventing oxidative flavour deterioration of foods enriched with n-3 polyunsaturated lipids: a comparative evaluation. **Trends in Food Science and Technology**, v.19, p.76-93, 2008.
- 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.
- KING, R.A.; MANO, M.M.; HEAD, R.J. Assessment of isoflavonoid concentrations in Australian bovine milk samples. **Journal of Dairy Research**, v.65, p.479-489, 1998.
- LINDMARK-MANSSON, H.; AKESSON, B. Antioxidative factors in milk. **British Journal of Nutrition**, v.84, p.103-110, 2000.
- LLOBERA, A.; CAÑELLAS, J. Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. **Food Chemistry**, v.101, p.659–666, 2007.
- LOOR, J.J.; FERLAY, A.; OLLIER, A.; et al. High-Concentrate Diets and Polyunsaturated Oils Alter Trans and Conjugated Isomers in Bovine Rumen, Blood, and Milk. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.3986–3999, 2005.

- LU, R.; SERRERO, G. Resveratrol, a Natural Product Derived From Grape, Exhibits Antiestrogenic Activity and Inhibits the Growth of Human Breast Cancer Cells. **Journal of Cellular Physiology**, v.179, p.297–304, 1999.
- MALACRIDA, C.R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, p.659-664, 2005.
- MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, p.727-747, 2004.
- MAKRIS, D.; BOSKOU, G.; ANDRIKOPOULOS, N.K.; Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.20, p.125-132, 2007.
- MILLER, J.K.; BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA, E.; MADSEN, F.C. Oxidative Stress, Antioxidants, and Animal Function. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.2812-2823, 1993.
- MIN, D.B. Lipid oxidation of edible oil. In: AKOH, C.C.; MIN, D.B. **Food Lipids: chemistry, nutrition and biotechnology**, New York: Marcel Dekker, p.283-296, 1998.
- MONTEALEGRE, R.R.; PECES, R.R.; VOZMEDIANO, J.L.C.; et al. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, p.687–693, 2006.
- NEGRO, C.; TOMMASI, L.; MICELI, A. Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. **Bioresource Technology**, v.87, p.41–44, 2003.
- NEVES, C.A., SANTOS, G.T., MATSUCHITA, M., et al. Intake, whole tract digestibility, milk production, and milk composition of Holstein cows fed extruded soybeans treated with or without lignosulfonate. **Animal Feed Science and Technology**, v.134, p.32-44, 2007.
- NEVES, C.A.; SANTOS, W.B.R. ;SANTOS, G.T., et al. Production performance and milk composition of dairy cows fed extruded canola seeds treated with or without lignosulfonate. **Animal Feed Science and Technology**, v. 154, p.83-92, 2009.
- NICHOLSON, J.W.G.; ST-LAURENT, A. M.; MCQUEEN, R.E.; CHARMLEY, E. The effect of feeding organically bound selenium and  $\alpha$ -tocopherol to dairy cows on susceptibility of milk to oxidation. **Canadian Journal of Animal Science**, v.71, p. 1181-1186, 1991.
- NÖRNBERG, J.A.; MELLO, R.O.; et al. Características química-bromatológicas de silagens de bagaço de Uva. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia. 39., 2002, Recife. **Anais...** Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002.

- PALMQUIST, D.L.; MATTOS, W.R.S. Metabolismo de lipídios. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p.292-294.
- 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.
- PETIT, H.V.; CÔRTEZ, C.; SILVA, D.; et al. The interaction of monensin and flaxseed hulls on ruminal and milk concentration of the mammalian lignan enterolactone in late-lactating dairy cows. **Journal of Dairy Research**, v.76, p.475-482, 2009.
- PIRMOHAMMADI, R.; GOLGASEMGAREBAGH, A.; AZARI, A.M. Effects of ensiling and drying of white grape pomace on chemical composition, degradability and digestibility for ruminants. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.6, p.1079-1082, 2007.
- RAINER, L.; HEISS, C.J. Conjugated Linoleic Acid: Health Implications and Effects on Body Composition. **Journal of the American Dietetic Association**, v.6, p.963-966, 2004.
- RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.29, p.755-760, 2006.
- SANTOS, F.L.; SILVA, M.T.C.; LANA, R.P.; et al. Efeito da Suplementação de Lipídios na Ração sobre a Produção de Ácido Linoléico Conjugado (CLA) e a Composição da Gordura do Leite de Vacas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1931-1938, 2001.
- SANTOS, N.W.; SANTOS, G.T.; SILVA-KAZAMA, D.C.; et al. Composição bromatológica da silagem de bagaço de uva com níveis crescentes de uréia e dias de ensilagem. In: 47 reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010, Salvador. **Anais...47 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 2010.
- SIES, H., STAHL, W. Vitamins E and C,  $\beta$ -carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.62, p.1315-1321, 1995.
- SILVA, D.C.; SANTOS, G.T.; BRANCO, A.F.; et al. Production performance and milk composition Dairy Cow fed Whole or Ground Flaxseed with or without monensin. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 2928-2936, 2007.
- SLOTS, T.; SKIBSTED, L.H.; NIELSEN, J.H. The difference in transfer of all-rac- $\alpha$ -tocopherol stereo-isomers to Milk from cows and the effect on its oxidative stability. **International Dairy Journal**, v.17, p.737-745, 2007.
- SOARES, M.; WELTER, L. KUSKOSKI, E.M.; et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.1, p.059-064, 2008.



- SUTTON, J.D. Altering milk composition by feeding. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.2801-2814, 1989.
- TIMMONS, J.S.; WEISS, W.P.; PALMQUIST, D.L.; HARPER, W.J. Relationships Among Dietary Roasted Soybeans, Milk Components, and Spontaneous Oxidized Flavor of Milk. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.2440-2449, 2001.
- TOSTO, M.S.L.; ARAÚJO, G.G.L.; OLIVEIRA, R.L.; et al. Composição química e estimativa de energia da palma forrageira e do resíduo desidratado de vitivinícolas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, p. 239-249, 2007.
- WALSTRA, P. On the Stability of Casein Micelles. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.1965-1979, 1990.
- WEISS, W.P. Effect of Dietary Vitamin C on Concentrations of Ascorbic Acid in Plasma and Milk. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.2302-2307, 2001.
- ZALIKARENAB, L.; PIRMOHAMMADI, R.; TEIMURIYANSARI, A. Chemical composition and digestibility of dried white and red grape pomace for ruminants. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.6, p.1107-1111, 2007.

## OBJETIVO GERAL

O objetivo com este estudo foi melhorar a estabilidade oxidativa da gordura do leite de vacas alimentadas com óleo de soja através da inclusão de silagem de resíduo de uva nas dietas, como fonte de antioxidante natural. Para isso, avaliaram-se os seguintes parâmetros: produção, composição, composição de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite e também o consumo, digestibilidade dos nutrientes e parâmetros sanguíneos.

## **I. Consumo, Digestibilidade Aparente e Parâmetros Sanguíneos de Vacas da Raça Holandesa Alimentadas com Níveis de Silagem de Resíduo de Uva em Dietas com Óleo de Soja**

**Resumo:** Objetivou-se avaliar o consumo, a digestibilidade aparente e os parâmetros sanguíneos de vacas da raça Holandesa confinadas, alimentadas com dieta controle com 4% de óleo de soja, dieta com 4% de óleo de soja e 5% de silagem de resíduo de uva, dieta com 4% de óleo de soja e 7,5% de silagem de resíduo de uva, dieta com 4% de óleo de soja e 10% de silagem de resíduo de uva. Foram utilizadas quatro vacas lactantes com peso vivo médio de  $504 \pm 26$  kg e  $136 \pm 28$  dias de lactação, distribuídas em um quadrado latino com quatro tratamentos e quatro períodos de 21 dias cada. Consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes foram estimados e a concentração de metabólitos sanguíneos analisados. As análises dos dados mostram que não foram observadas diferenças ( $P>0,05$ ) na ingestão de MS, MO, PB, FDN, FDA e CNF, entretanto, o fornecimento de dietas contendo a silagem de resíduo de uva resultou em maior consumo de EE ( $P=0,02$ ). A digestibilidade aparente total dos nutrientes foi afetada pelos níveis de silagem de resíduo de uva. A digestibilidade da MS foi reduzida linearmente ( $P=0,02$ ), assim como a MO ( $P=0,03$ ) e PB ( $P=0,03$ ) a partir do nível de 7,5% na MS de silagem de resíduo de uva. A digestibilidade do EE foi reduzida linearmente com os níveis de inclusão da silagem de resíduo de uva ( $P=0,02$ ). As dietas estudadas modificaram a digestibilidade de forma linear negativa da FDN ( $P=0,02$ ) e da FDA ( $P=0,01$ ) e os resultados mostraram esse efeito a partir do nível de inclusão de 5% na MS. A digestibilidade dos CNF não foi influenciada pelos tratamentos. Com relação aos parâmetros sanguíneos, as concentrações de glicose, triglicerídeos, colesterol total e frações HDL, LDL, VLDL e ureia não foram influenciadas ( $P>0,05$ ) pelas dietas experimentais. Desta forma, o fornecimento da silagem de resíduo de uva não alterou o consumo e parâmetros sanguíneos dos animais, mas reduziu a digestibilidade dos nutrientes.

**Palavras-chave:** resíduo de uva, digestibilidade, matéria seca, silagem, polifenóis

## **Intake, Apparent Digestibility and Blood Parameters of Holstein Cows Fed with Grape Residue Silage Levels in Diets with Soybean Oil**

**Abstract:** The objective was to evaluate the intake, digestibility and blood parameters of Holstein cows confined and fed with control diet of 4% soybean oil, diet with 4% soybean oil and 5% grape residue silage, diet with 4% soybean oil and 7.5% of grape residue silage, diet with 4% soybean oil and 10% grape residue silage. There were used four lactating cows with average weight of  $504 \pm 26$  kg and  $136 \pm 28$  days in milk. They were assigned in a Latin square with four treatments and four periods of 21 days each. Total intake and digestibility of nutrients were estimated and the concentration of blood metabolites analyzed. Data analysis showed that there were no differences on DM intake, OM, NDF, AFD and NFC ( $P>0.05$ ), however, the provision of diets supplemented with grape residue silage resulted in greater consumption of EE ( $P=0.02$ ). The total apparent digestibility of nutrients was affected by levels of grape residue silage. DM digestibility was reduced linearly ( $P=0.02$ ) as OM ( $P=0.03$ ) and CP ( $P=0.03$ ) from the level of 7.5% DM silage waste grape. Digestibility of EE was reduced linearly with the levels of inclusion of grape residue silage ( $P=0.02$ ). The diets changed the digestibility of the NDF linearly negative ( $P=0.02$ ) and ADF ( $P=0.01$ ) and the results showed that effect with the inclusion level of 5% DM. The digestibility of NFC was not affected by treatments. Regarding blood parameters, concentrations of glucose, triglycerides, total cholesterol and HDL, LDL, VLDL and urea were not affected ( $P>0.05$ ) by diets. Thus, the supply of grape residue silage did not alter intake and blood of animals, but decreased the digestibility of nutrients.

**Key words:** digestibility, dry matter, grape residue, polyphenols, silage

## Introdução

O resíduo de uva é o material resultante da prensagem de uvas, composto por cascas e sementes, o qual é produzido em grande quantidade nas regiões vinícolas. Apesar de ser biodegradável necessita de tempo para ser mineralizado, constituindo-se em fonte potencial de poluentes para o meio ambiente (Cataneo et al., 2008). Em regiões tradicionalmente produtoras de vinho, a utilização do resíduo de uva na alimentação de animais é comum pelo seu baixo custo e representa alternativa alimentar para reduzir os efeitos da estacionalidade de produção forrageira na produção animal. Com o crescente interesse nos compostos antioxidantes da uva (Negro et al., 2003; Montealegre et al., 2006; Llobera & Cañellas, 2007; Soares et al., 2008), o resíduo de uva apresenta potencial para utilização nas dietas de ruminantes como fonte desses compostos.

O resíduo resultante da produção de vinho apresenta, em média, 48% de matéria seca (MS) e teores em nutrientes de 16,44% de proteína bruta (PB), 51,20% de fibra em detergente neutro (FDN), 11,24% de extrato etéreo (EE) e 3,72% de matéria mineral (MM) (Santos et al., 2010), com 41,66% de digestibilidade “in vitro” da matéria seca, 28,12% de digestibilidade “in vitro” da proteína bruta e 64,46% de digestibilidade “in vitro” da FDN (Grande et al., 2010). A secagem e ensilagem são os métodos mais comuns de preservação do alimento pelo seu teor de umidade.

A avaliação da inclusão do resíduo de uva tem sido realizada em dietas para ovinos. O alimento é bem aceito pelos animais, mas exerce efeito de redução na digestibilidade da matéria seca e nutrientes, com exceção do EE (Baumgärtel et al., 2007). Zalikarenab et al. (2007) alimentaram ovinos com resíduo seco de uva branca e tinta em substituição à alfafa e observaram diminuição no coeficiente de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro.

Esses efeitos são mais pronunciados com o uso do resíduo proveniente de variedades tintas, relacionando o alto teor de polifenóis à redução na digestibilidade da proteína (O’Connell & Fox, 2001) e o alto teor de lignina (Baumgärtel et al., 2006) à redução na digestibilidade da matéria seca e nutrientes.

Nesse estudo, objetivou-se avaliar o efeito do fornecimento de silagem de resíduo de uva em dietas com óleo de soja, para vacas em lactação, sobre os parâmetros consumo e digestibilidade de nutrientes e metabólitos sanguíneos.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido no setor de Bovinocultura de leite da Fazenda Experimental de Iguatemi, do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá. Foram utilizadas quatro vacas da raça Holandesa, primíparas, com  $136 \pm 28$  dias de lactação, peso vivo médio de  $504 \pm 26$  kg. Esses animais foram distribuídos em quadrado latino 4x4, com quatro períodos experimentais de 21 dias cada, com 14 dias para adaptação e sete dias para coleta.

As vacas permaneciam confinadas em baias individuais, com alimentação fornecida duas vezes ao dia, às 8h e 16h, em média 2,9% de matéria seca em relação ao peso vivo, com a quantidade de alimento ajustada para obter 100 g/kg de sobras. A razão volumoso:concentrado foi de 60:40, objetivando que as dietas fossem isonitrogenadas e teores semelhantes de extrato etéreo, de modo a atender as exigências nutricionais de vacas em lactação, conforme NRC (2001). A dieta era composta de silagem de milho como volumoso, concentrado e diferentes níveis de silagem de resíduo de uva. O concentrado foi composto de farelo de soja, milho moído, farelo de trigo, óleo de soja refinado e ureia (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição química dos alimentos utilizados nas rações

Alimentos	%					
	MS <sup>1</sup>	PB	EE	FDN	Ca	P
Silagem de milho	20,5	8,4	2,92	50	0,52	0,16
Silagem de resíduo de uva	33	27	10,8	50	0,345	0,22
Farelo de soja	89,62	52,46	2,27	12,96	0,41	0,62
Milho moído	89,13	8,42	4,45	14,67	0,023	0,31
Farelo de trigo	89	18,4	4,61	10,67	0,14	0,98
Óleo de soja refinado	100		100			
Ureia	100		281			

<sup>1</sup> MS= Matéria seca, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, FDN= fibra em detergente neutro, Ca= cálcio, P = fósforo.

Os tratamentos estudados foram os seguintes (Tabela 2): dieta controle com óleo de soja, dieta com óleo de soja + 5% de silagem de resíduo de uva, dieta com óleo de soja + 7,5% de silagem de resíduo de uva e dieta com óleo de soja + 10% de silagem de resíduo de uva.

TABELA 2 – Composição percentual (% da MS) e química das dietas experimentais: controle sem silagem de resíduo de uva, 5% de silagem de resíduo de uva na MS, 7,5% de silagem de resíduo de uva na MS e 10% de silagem de resíduo de uva na MS

Ingredientes	Tratamentos			
	0%	5%	7,5%	10%
Silagem de milho	60	55	52,5	50
Silagem de resíduo de uva	-	5	7,5	10
Farelo de soja	15,30	16,80	15,80	14,30
Milho moído	9,80	14,70	15,80	18,00
Farelo de trigo	6,0	-	-	-
Óleo de soja refinado	4,0	4,0	4,0	4,0
Ureia	0,4	-	-	-
Suplemento mineral vitamínico*	2,80	2,80	2,80	2,80
Bicarbonato de sódio	0,64	0,60	0,64	0,40
Fosfato Bicálcico	0,45	0,55	0,45	0,37
Sal Comum	0,05	0,05	0,05	0,03
Composição química (% da MS)				
MS % <sup>a</sup>	50,30	50,51	50,86	51,35
MO %	86,35	86,39	86,45	86,63
PB %	14,61	14,49	14,13	14,30
EE %	6,74	7,10	7,32	7,57
FDN %	34,65	33,97	34,33	34,37
FDA %	21,58	22,25	22,89	23,37
Cinzas %	6,50	6,27	6,48	5,76

\*Ca: 156 g/kg; P: 51 g/kg; S: 20 g/kg; Mg: 33 g/kg; Na: 93 g/kg; K: 28 g/kg; Co: 30 mg/kg; Cu: 400 mg/kg; Cr: 10 mg/kg; Fe: 2.000 mg/kg; I: 40 mg/kg; Mn: 1.350 mg/kg; Se: 15 mg/kg; F: 510 mg/kg; Zn: 1.700 mg/kg; Monensina sódica: 480 mg/kg.

<sup>a</sup> MS= Matéria seca, MO= Matéria orgânica, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, FDN= fibra em detergente neutro, FDA= fibra em detergente ácido

O resíduo de uva utilizado, composto por cascas e sementes, era predominante da variedade Isabel (Tabela 3), resultante da produção de suco de uva da Cooperativa Agroindustrial de Rolândia (Corol) – PR. Após prensagem na indústria, o material foi transportado até as dependências da Fazenda Experimental de Iguatemi e procedeu à ensilagem do material que continha 28% de matéria seca. Os silos utilizados eram feitos de alvenaria com volume de 1,8 m<sup>3</sup>, a compactação foi realizada por pisoteamento resultando em densidade de 720 kg/m<sup>3</sup>. Com base em um estudo realizado pelo grupo de pesquisa anteriormente (Grande et al., 2010) adicionou-se ao resíduo de uva 1% de ureia com base na matéria verde e o silo foi aberto após 30 dias de ensilagem visando obter adequada digestibilidade. Após a compactação, os silos foram vedados com lona preta e tiras de borracha.

TABELA 3 – Composição química e em ácidos graxos da silagem de resíduo de uva

Composição química (% da MS)	
Matéria seca	33,70
Matéria orgânica	91,37
Extrato etéreo	10,50
Proteína bruta	20,58
Fibra em detergente neutro	58,36
Fibra em detergente ácido	43,14
Celulose	33,00
Hemicelulose	15,22
Lignina	10,14
Carboidratos não fibrosos	7,76
NIDN/NT	69,60 <sup>a</sup>
NIDA/NT	25,00 <sup>b</sup>
Cinzas	2,81
Energia Bruta <sup>c</sup>	5,49
Ácidos graxos (% do total)	
16:0	12,51
18:0	4,43
18:1 <sup>cis</sup> 9	19,21
18:2 <sup>cis</sup> 6	61,15
18:3 <sup>cis</sup> 3	1,41
AGPI <sup>d</sup>	63,47
AGMI <sup>e</sup>	19,21
AGS <sup>f</sup>	17,32
Ômega 6	62,01
Ômega 3	1,46
Ômega 6:ômega 3	42,43
Polifenóis totais (mg EAG/100mg base seca) <sup>g</sup>	1.517,04
Flavonoides (mg EQ/100mg base seca) <sup>h</sup>	228,40

<sup>a</sup>NIDN/NT: nitrogênio insolúvel em detergente neutro, em % do nitrogênio total; <sup>b</sup>NIDA/NT: nitrogênio insolúvel em detergente ácido, em % do nitrogênio total; <sup>c</sup>Energia Bruta: Kcal/kg; <sup>d</sup>AGPI: ácidos graxos poli-insaturados; <sup>e</sup>AGMI: ácidos graxos monoinsaturados; <sup>f</sup>AGS: ácidos graxos saturados; <sup>g</sup>EAG: equivalente ácido gálico; <sup>h</sup>EQ: equivalente quercetina.

Amostras diárias de alimentos fornecidos e sobras foram realizadas e mantidas congeladas a -10°C. O preparo das amostras para análise foi realizado por meio de secagem em estufa de ventilação forçada (55°C, 72 h), moídas em peneira com crivo de 1 mm, posteriormente, foram compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, resultando em uma única amostra média por animal e por período. As análises foram realizadas para determinação de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas, segundo Silva & Queiroz (2002). A concentração da fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas conforme descrito em Van Soest et al. (1991) no determinador de fibra Tecnal TE-149 (Piracicaba, São Paulo, BR).



Do décimo quinto ao vigésimo dia de cada período experimental, foram coletadas amostras de fezes, diretamente na ampola retal, às 8h e 16h. Após secagem em estufa com ventilação forçada (55°C – 72 h), as amostras foram processadas em moinho do tipo Willey (1 mm) e compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, por animal e período e armazenadas para posterior análise.

Para determinação do consumo de matéria seca e nutrientes, diariamente foram registradas as quantidades de alimento oferecido e sobras, de modo a obter diariamente 100 g/kg de sobras. Para estimação da excreção fecal diária foi utilizada como indicador interno a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), estimada nas amostras do alimento fornecido, sobras e fezes por intermédio de procedimento de digestibilidade “in situ” descrita em Cochran et al. (1986), por 240h como sugerido por Casali et al. (2008), seguindo as equações:

$$EF = \frac{CFDNi}{FDNi_f}$$

$$CFDNi = FDNi_{of} - FDNi_s$$

Em que: EF = excreção fecal (kg/dia); CFDNi = consumo de fibra em detergente neutro indigestível (kg); FDNi<sub>f</sub> = fibra em detergente neutro indigestível das fezes (kg/kg); FDNi<sub>of</sub> = fibra em detergente neutro indigestível do oferecido (kg); FDNi<sub>s</sub> = fibra em detergente neutro indigestível das sobras (kg).

A percentagem de NDT dos tratamentos foi determinada pela equação descrita por Weiss (1999):

$$NDT (\%) = PBD + FDND + CNFD + (EED \times 2,25)$$

Em que: NDT = nutrientes digestíveis totais; PBD = proteína bruta digestível; FDND = fibra em detergente neutro (sem correção para cinzas e proteína); CNFD = carboidratos não fibrosos digestíveis e EED= extrato etéreo digestível. Sendo:

$$CNF (\%) = 100 - (FDN + PB + EE + cinzas) \text{ (Weiss, 1999)}$$

A concentração de energia líquida de lactação (EL<sub>L</sub>) foi estimada por meio da equação descrita pelo NRC (2001):

$$EL_L \text{ (mcal/kg)} = 0,0245 \times NDT (\%) - 0,12$$

Avaliou-se o tamanho de partícula de forragem, ração total misturada (RTM) e sobras (Tabela 6), com o uso do separador de partículas Penn State (Heinrichs, 1996) com duas peneiras: a superior retém partículas de tamanho 19-38 mm, o meio retém o tamanho 7,8-19 mm e o compartimento do fundo acumula partículas menores de 7,8 mm; como ferramenta complementar na interpretação dos dados.

Na manhã do décimo oitavo dia de cada período experimental, foi realizada a coleta de sangue dos animais, em jejum, pela veia jugular em tubos contendo heparina. As amostras de sangue foram submetidas à centrifugação a 2.500 g por 20 minutos, sendo o plasma separado, acondicionado em frasco eppendorf e armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$ , segundo metodologia descrita por Cavalieri et al. (2009). Os parâmetros sanguíneos analisados foram VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade), LDL (lipoproteína de baixa densidade), HDL (lipoproteína de alta densidade), colesterol total (teste fotométrico 28 enzimático), triglicerídeos (teste colorimétrico enzimático) e glicose (teste colorimétrico enzimático) no aparelho Vitalab Selectra 2 com Kits comerciais da Diasys<sup>®</sup>.

A análise dos resultados foi realizada com o uso do software R versão 2.12.0 (2010), considerou-se os dados em um modelo linear para efeitos mistos aplicável ao quadrado latino, com análise de variância e regressão e ajuste das equações segundo o modelo  $Y = \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i$ , quando significativo ao nível de 5% de probabilidade. As médias dos tratamentos foram comparadas com as médias controle pelo teste Dunnett, com a significância declarada a 5% de probabilidade.

## **Resultados e discussão**

A análise dos dados mostra que a inclusão da silagem de resíduo de uva não resultou em diferenças na ingestão de matéria seca e nutrientes ( $P>0,05$ ), com exceção do EE (Tabela 4). Neste parâmetro houve aumento linear no consumo de EE à medida da maior participação da silagem de resíduo de uva ( $P=0,02$ ) em função de seu alto conteúdo em EE (10,5%) em substituição a silagem de milho.

TABELA 4 - Ingestão de nutrientes (kg dia<sup>-1</sup> e %PV) por vacas da raça Holandesa alimentadas com dieta controle sem silagem de resíduo de uva, 5% de silagem de resíduo de uva, 7,5% de silagem de resíduo de uva e 10% de silagem de resíduo de uva

	Tratamentos				Valor-P <sup>1</sup>		EP
	0%	5%	7,5%	10%	L	Q	
	kg dia <sup>-1</sup>						
MS	14,46	14,73	14,03	14,71	0,94	0,99	0,59
MO	12,45	12,70	12,11	12,71	0,94	0,98	0,51
PB	2,27	2,27	2,12	2,25	0,82	0,99	0,11
EE <sup>a</sup>	1,08	1,13	1,16	1,21	0,003	0,87	0,03
FDN	4,56	4,59	4,26	4,59	0,92	1,00	0,02
FDA	2,90	3,10	3,00	3,24	0,14	0,73	0,14
CNF	5,57	5,78	5,57	5,78	0,97	0,97	0,51
EL <sub>L</sub> <sup>b</sup>	36,09	35,01	35,63	32,91	0,59	0,82	2,49
	%PV						
MS	2,90	2,92	2,86	2,83	0,98	0,99	0,14
MO	2,50	2,52	2,47	2,45	0,99	0,99	0,12
PB	0,46	0,45	0,43	0,43	0,92	0,97	0,02
EE	0,22	0,22	0,24	0,23	0,19	0,65	0,01
FDN	0,92	0,91	0,87	0,88	0,95	0,98	0,06
FDA	0,58	0,61	0,61	0,62	0,92	0,97	0,04
CNF	0,18	0,19	0,18	0,22	0,72	0,98	0,10

<sup>1</sup>Valores de P para efeito linear (L) e quadrático (Q); <sup>a</sup> $\hat{y}=1,073+0,013x$  ( $r^2=0,27$ );

<sup>b</sup> Mcal/dia; EP – erro padrão da média.

Os animais alimentados com as dietas experimentais apresentaram consumo médio de 14,48 kg dia<sup>-1</sup> e 2,88 %PV de MS. Em média, o consumo de FDN foi de 4,50 kg dia<sup>-1</sup> e 0,89 %PV, valor este inferior àquele reportado por Mertens (1992) de 1,2 %PV de FDN, considerado ideal para vacas leiteiras. Esse fato pode estar relacionado ao inadequado tamanho de partícula do volumoso observado durante o curso do experimento. Observa-se na Tabela 5, que o tamanho médio de partícula das dietas não foi adequado às recomendações de Heinrichs (1996). A silagem de milho apresentou alta proporção de partículas grandes e baixa proporção dos tamanhos médios (7,8-19 mm) e pequenos (7,8 mm). Isso também foi observado nas características da ração total e das sobras. O resultado pode ter sido a seleção exercida pelos animais por partículas menores e refugo das partículas maiores.

Tabela 5 – Distribuição (%) por tamanho de partículas da silagem de milho, dieta controle sem silagem de resíduo de uva, dieta com 5% MS de silagem de resíduo de uva, 7,5% de silagem de resíduo de uva, 10% de silagem de resíduo de uva e respectivas sobras, pelo método Penn State

	Silagem de milho				
	Recomendação <sup>1</sup>	Resultados obtidos			
Superior (19-38 mm)	10-15	34			
Meio (7,8-19 mm)	40-50	35			
Fundo (<7,8 mm)	40-50	31			
	Ração total misturada				
	Recomendação <sup>1</sup>	0%	5%	7,5%	10%
Superior (19-38 mm)	6-10	24	25	27	24
Meio (7,8-19 mm)	30-50	31	36	33	35
Fundo (<7,8 mm)	40-60	45	39	40	41
	Sobras				
		0%	5%	7,5%	10%
Superior (19-38 mm)		34	30	33	19
Meio (7,8-19 mm)		41	40	38	40
Fundo (<7,8 mm)		25	30	29	41

<sup>1</sup>Heinrichs (1996).

A ausência de efeito no consumo de alimentos pelas vacas nas dietas contendo a silagem de resíduo de uva contraria as afirmações de Fontenote et al. (1977) de que o uso de resíduos de frutas pode reduzir o consumo de alimentos em função dos altos teores de fibra, lignina e tanino, que atuam diminuindo a taxa de passagem dos alimentos, com maior tempo de retenção da dieta no trato gastrointestinal. Isto valida o resíduo de uva como alimento em potencial para vacas leiteiras.

Um estudo semelhante foi realizado por Bahrami et al. (2010) sobre os efeitos da inclusão do resíduo de uva seca em níveis na dieta de ovinos e verificaram variações no consumo, com aumento significativo do mesmo até o nível 10% na MS em relação ao grupo controle; depois houve diminuição no consumo, com redução máxima obtida com 20% do resíduo de uva.

Quanto à digestibilidade (Tabela 6), observou-se redução linear ( $P=0,02$ ) na digestibilidade da MS com a inclusão da silagem de resíduo de uva nas dietas. Em relação à dieta controle (70,65%) houve diminuição significativa desse parâmetro a partir dos níveis 7,5% (62,61%) e 10% (58,69%) na MS. A digestibilidade da MO apresentou o mesmo comportamento linear negativo ( $P=0,03$ ) nas dietas com a silagem de resíduo de uva e as dietas contendo 7,5% e 10% diferiram da dieta controle. Esse efeito se deve ao alto teor de lignina do resíduo de uva (10%, Tabela 3) e faz dele um

ingrediente de baixa digestibilidade. Estudos “in vitro” foram realizados por Grande et al. (2010) com ensilagem do resíduo de uva da produção de vinho e observaram 41,66% de DIVMS. Nörnberg et al. (2002) relataram valores reduzidos 23,95% de DIVMS, com menor digestibilidade das sementes (27,08%) do que das cascas (33,75%).

TABELA 6 – Coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes de dietas fornecidas a vacas da raça Holandesa alimentadas com dieta controle sem silagem de resíduo de uva, 5% de silagem de resíduo de uva, 7,5% de silagem de resíduo de uva e 10% de silagem de resíduo de uva

	Tratamentos				Valor-P <sup>1</sup>		EP
	0%	5%	7,5%	10%	L	Q	
MS <sup>a</sup>	70,65a	65,20a	61,84b	58,69b	0,02	0,65	2,49
MO <sup>b</sup>	72,06a	66,40a	63,54b	60,01b	0,03	0,64	2,22
PB <sup>c</sup>	78,67a	71,11a	67,60b	65,92b	0,03	0,91	2,43
EE <sup>d</sup>	93,29	89,41	88,11	85,41	0,02	0,90	2,67
FDN <sup>e</sup>	54,68a	43,86b	37,65b	37,20b	0,02	0,99	3,17
FDA <sup>f</sup>	48,86a	37,07b	25,98b	25,38b	0,01	0,99	4,79
CNF	84,11	83,66	85,03	80,69	0,96	0,99	1,88

<sup>1</sup> Valores de P para efeito linear (L) e quadrático (Q); EP – erro padrão da média.

<sup>a</sup> $\hat{y}=70,967-1,174x$  ( $r^2=0,39$ ); <sup>b</sup> $\hat{y}=72,262-1,213x$  ( $r^2=0,46$ ); <sup>c</sup> $\hat{y}=78,392-1,258x$  ( $r^2=0,41$ ); <sup>d</sup> $\hat{y}=93,353-0,764x$  ( $r^2=0,35$ ); <sup>e</sup> $\hat{y}=54,162-1,746x$  ( $r^2=0,54$ ); <sup>f</sup> $\hat{y}=49,008-2,361x$  ( $r^2=0,61$ ).

Médias seguidas de letras diferentes do controle diferem pelo Teste Dunnett ( $p<0,05$ ).

Houve diminuição na digestibilidade da PB da dieta, com comportamento linear ( $P=0,03$ ) à medida da maior participação da silagem de resíduo de uva nas dietas. Em relação à dieta controle (78,67%) esta redução na digestibilidade foi significativa com os níveis 7,5% e 10% na MS com médias 69,31% e 65,92%, respectivamente. Esse fato pode ser atribuído à baixa qualidade de proteína evidenciado pelos teores de 69,6% de NIDN e 25% de NIDA em relação ao nitrogênio total (Tabela 3), associada à fração fibrosa e também aos polifenóis presentes na uva (1.517,04 mg EAG /100 mg) que reduzem a digestibilidade da proteína por ligação direta e pela inibição de enzimas digestivas no trato digestório (O’Connell & Fox, 2001). A silagem de resíduo de uva já foi reportada por apresentar proteína de baixa digestibilidade por Grande et al. (2010) com 28,12% de DIVPB.

Foi observado efeito significativo ( $P=0,02$ ) das dietas com silagem de resíduo de uva sobre a digestibilidade do EE que apresentou comportamento linear negativo. O consumo de EE foi aumentado pela inclusão ( $P=0,003$ ), a biohidrogenação dos ácidos graxos poli-insaturados que podem ter contribuído para um aporte maior de ácidos

graxos saturados no intestino. Segundo Palmquist & Mattos (2006) a digestibilidade de lipídeos em ruminantes tende a diminuir quando a ingestão de ácidos graxos é aumentada e ácidos graxos saturados apresentam baixa solubilidade para absorção. Resultado diferente foi observado por Baumgärtel et al. (2007) na avaliação do resíduo de uva na dieta de ovinos, não foi constatada diferença na digestibilidade do EE das dietas com resíduo de uva em relação à dieta controle, com coeficiente de 69%.

A inclusão da silagem de resíduo de uva reduziu a digestibilidade da FDN de forma linear ( $P=0,02$ ). Em relação à dieta controle, constatou-se que a digestibilidade foi reduzida pelo nível mais baixo de 5% do alimento na dieta (44,36%) até o nível 10% (37,20%). Observou-se também diminuição na digestibilidade da FDA ( $P=0,01$ ) com comportamento linear e assim como a FDN, a FDA foi afetada desde a menor proporção da silagem de resíduo de uva nas dietas. O mesmo efeito foi relatado por Baumgärtel et al. (2007) que observaram redução de 31,5% na digestibilidade da FDN quando alimentaram ovinos com 30% de resíduo de uva na MS da dieta, e diminuição de 56% na digestibilidade da FDA em relação à dieta controle.

Resultados diferentes deste trabalho foram obtidos em estudo conduzido por Bahrami et al. (2010) que observaram aumento na digestibilidade da MS, MO, PB e FDN com níveis crescentes do resíduo de uva na dieta de ovinos, com melhores resultados obtidos com 10% do resíduo na MS.

Assim como nesse estudo, Zalikarenab et al. (2007) ao incluir resíduo de uva branca e tinta na dieta de ovinos em substituição à alfafa, também observaram diminuição no coeficiente de digestibilidade da MS e MO, e de todos os nutrientes (PB, FDN e EM), sobretudo àqueles referentes ao resíduo de uva tinta; os autores relacionaram a baixa digestibilidade da PB aos altos teores de compostos fenólicos ( $25,6 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$ ) e taninos ( $20,2 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$ ).

O resíduo de uva se enquadra no tipo de material citado por Lousada Júnior et al. (2005) que subprodutos contendo grande participação de sementes em sua constituição podem apresentar elevados teores de taninos, uma vez que as sementes contêm altas concentrações de taninos no tegumento.

Alguns autores reportaram o alto conteúdo em lignina do resíduo de uva (22,87% e 26%, Tosto et al., 2007; Baumgärtel et al., 2006, respectivamente), ela é geralmente considerada como o principal fator limitante da digestibilidade. A lignina se origina da mesma via de síntese (ácido chiquímico) dos compostos fenólicos, como flavonas,

taninos condensados, lignanas e isoflavonas na planta (Van Soest, 1994). O uso do resíduo de uva, sendo caracteristicamente rico nessas substâncias, sempre estará associado a seus efeitos na digestibilidade da matéria seca, no entanto, os compostos fenólicos possuem propriedades antioxidantes e sua transferência para o leite é de interesse para estabilidade oxidativa do leite.

Observa-se na Tabela 7, que a inclusão da silagem de resíduo de uva nas dietas não alterou os teores de CNF, em média 37,88%. Os valores são adequados em dietas para vacas leiteiras segundo NRC (2001) que preconiza concentração de CNF entre 36-44% na matéria seca para evitar acidose e problemas metabólicos.

TABELA 7 - Teor de carboidratos não fibrosos (CNF), nutrientes digestíveis totais (NDT), energia líquida de lactação ( $EL_L$ ) das dietas controle sem silagem de resíduo de uva, 5% de silagem de resíduo de uva, 7,5% de silagem de resíduo de uva e 10% de silagem de resíduo de uva

	Tratamentos				Valor-P <sup>1</sup>		EP
	0%	5%	7,5%	10%	L	Q	
CNF (%)	37,50	38,17	37,86	38,00	0,91	0,98	0,26
NDT (%) <sup>a</sup>	74,15a	69,05a	68,09a	63,45b	0,01	0,77	2,29
$EL_L$ (Mcal/kg MS) <sup>b</sup>	1,70a	1,57a	1,55a	1,43b	0,01	0,79	0,05

<sup>1</sup> Valores de P para efeito linear (L) e quadrático (Q); EP – erro padrão da média.

<sup>a</sup> $\hat{y}=74,31-1,006x$  ( $r^2=0,39$ ); <sup>b</sup> $\hat{y}=1,69-0,024x$  ( $r^2=0,38$ ).

Médias seguidas de letras diferentes do controle diferem pelo Teste Dunnett ( $p<0,05$ ).

Foi observado efeito significativo da silagem de resíduo de uva sobre os teores de NDT, os quais apresentaram comportamento linear negativo ( $P=0,01$ ) com a inclusão do alimento. Houve diferença significativa dessa redução com o nível 10% (63,51% NDT) em relação à dieta controle (73,97% NDT). Com o valor de NDT relacionado à composição da dieta e ao coeficiente de digestibilidade, a redução nestes teores era esperada, visto que houve diminuição na digestibilidade da proteína, da fibra em detergente neutro e extrato etéreo à medida que foi incluída a silagem de resíduo de uva nas dietas. A redução no teor energético das dietas com silagem de resíduo de uva não é adequada para os animais desse estudo, considerando o nível de produção e consumo de alimentos, pois o NRC (2001) recomenda teor de NDT de 70% na MS.

Os valores de  $EL_L$  foram alterados pelos níveis da silagem de resíduo de uva de forma linear negativa ( $P=0,01$ ). A dieta contendo 10% do resíduo apresentou 1,44 Mcal/kg MS e diferiu significativamente da dieta controle com 1,69 Mcal/kg MS, mesmo efeito ocorrido com os valores de NDT. As dietas experimentais foram

formuladas por substituição da silagem de milho que é um volumoso de boa qualidade pela silagem de resíduo de uva, um ingrediente altamente fibroso, por consequência, houve diminuição do conteúdo de energia das dietas. A redução no teor de energia das dietas também foi observada por Baumgärtel et al. (2007) com redução no conteúdo de energia metabolizável em dietas com proporção 30% do resíduo de uva na MS. É sabido que o resíduo de uva apresenta baixo valor energético, como reportaram Tosto et al. (2007), na forma desidratada apresentou 48,3% de NDT e 2,16 Mcal/kg de energia digestível.

Pode ser observado na Tabela 8, que não houve efeito significativo ( $P>0,05$ ) da alimentação com silagem de resíduo de uva sobre a concentração sanguínea de glicose, com as médias dos tratamentos (66,56 mg/dL) dentro da variação média de glicose em bovinos (40-80 mg/dL), citado por Park & Jacobson (1993). Segundo os mesmos autores, a alta capacidade de utilizar acetato para produção de energia em ruminantes poupa glicose para diversos tecidos e mantém seu nível sanguíneo constante.

TABELA 8 – Metabólitos sanguíneos (mg/dL) de vacas da raça Holandesa alimentadas com dieta controle sem silagem de resíduo de uva, 5% de silagem de resíduo de uva, 7,5% de silagem de resíduo de uva e 10% de silagem de resíduo de uva

	Tratamentos				Valor-P <sup>1</sup>		EP
	0%	5%	7,5%	10%	L	Q	
Glicose	65,00	65,50	66,75	69,00	0,32	0,77	3,48
Triglicerídeos	13,25	16,25	15,75	15,00	0,92	0,99	2,98
Colesterol total	152,50	165,25	171,25	183,00	0,15	0,68	15,58
HDL	78,25	81,00	90,25	85,00	0,33	0,83	5,82
LDL	72,50	81,25	78,00	94,25	0,43	0,77	15,82
VLDL	2,50	3,00	3,00	3,00	0,99	0,99	0,61
Ureia	29,50	29,50	28,00	29,25	0,98	0,99	4,16

<sup>1</sup> Valores de P para efeito linear (L) e quadrático (Q); EP – erro padrão da média.

A concentração média de triglicerídeos (15,06 mg/dL) situa-se na variação média relatada desse parâmetro entre 10,95 e 22,12 mg/dL por Pogliani & Birgel (2007), para vacas adultas da raça Holandesa. Os níveis médios de colesterol total (168,0 mg/dL) foram mais elevados em relação a faixa citada 109,47 e 157,47 mg/dL pelos mesmos autores.

Atualmente há um crescente interesse no potencial antioxidante dos polifenóis para auxílio na prevenção e tratamento de doenças humanas, como as cardiovasculares e câncer. A alimentação com fontes de polifenóis é esperada melhorar não somente o



perfil lipídico sanguíneo, como também manter a integridade estrutural dos compostos contidos nas lipoproteínas transportadoras em estresse oxidativo, mas os resultados obtidos em pesquisas ainda são diversos. Ishimoto (2008) alimentou hamsters com dieta hiperlipidêmica associada a 20% de resíduo de uva da produção de suco e observou redução nas concentrações séricas de triglicerídeos, colesterol total e as frações HDL, LDL e VLDL. O autor também relata que os antioxidantes da uva atuam na proteção da LDL sob condições oxidativas, fator responsável pelo surgimento de processo inflamatório nas artérias.

Assim como nesse estudo Gobert et al. (2009) não observaram modificação da concentração das classes lipídicas sanguíneas quando suplementaram vitamina E associada a um extrato rico em polifenóis a vacas leiteiras alimentadas com óleo de linhaça. No entanto, esse tratamento melhorou a resistência da LDL à oxidação induzida. Do mesmo modo, Paschoal (2007) não observou alteração nas concentrações de colesterol total e triglicerídeos resultantes da alimentação de vacas leiteiras com soja extrusada e selênio como antioxidante.

## **Conclusão**

A inclusão da silagem de resíduo de uva na dieta de vacas leiteiras não alterou o consumo. No entanto, a participação desse alimento reduziu a digestibilidade da matéria seca e nutrientes, e conseqüentemente diminuiu o valor energético das dietas. A silagem de resíduo de uva não alterou o perfil de metabólitos sanguíneos dos animais.

**Literatura citada**

- ALZAHAL, O.; ODONGO, N.E.; MUTSVANGWA, T.; 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.
- AUGER, C.; CAPORICCIO, B.; LANDRAULT, N.; et al. Red Wine Phenolic Compounds Reduce Plasma Lipids and Apolipoprotein B and Prevent Early Aortic Atherosclerosis in Hypercholesterolemic Golden Syrian Hamsters (*Mesocricetus auratus*). **Journal of Nutrition**, v.132, p.1207-1213, 2002.
- BAHRAMI, Y.; FOROOZANDEH, A.; ZAMANI, F.; et al. Effect of diet with varying levels of dried grape pomace on dry matter digestibility and growth performance of male lambs. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v.6, p.605-610, 2010.
- BAUMGÄRTEL, T.; KLUTH, H.; EPPERLEIN, K.; RODEHUTSCORD, M. A note on digestibility and energy value for sheep of different grape pomace. **Small Ruminant Research**, v.67, p.302-306, 2007.
- BROWNSON, D.M.; AZIOS, N.G.; FUQUA, B.K.; et al. Flavonoid Effects Relevant to Cancer. **Journal of Nutrition**, v.132, p.3482-3489, 2002.
- CASALI, A. O.; DETMANN, E.; VALADARES, S.C.; et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.335-342, 2008.
- CAVALIERI, F.L.B.; SANTOS, G.T.; SILVA, D.C.; et al. Digestibilidade e metabólitos sanguíneos de vacas da raça Holandesa superovuladas que receberam Lac100® ou linhaça em grão como fontes de gordura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.896-902, 2009.
- COCHRAN, R.C., ADAMS, D.C., WALLACE, J.D.; et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: Evaluation of four potential markers. **Journal Animal Science**, v.63, p.1476-1483, 1986.
- DUODU, K.G.; TAYLOR, J.R.N.; BELTON, P.S.; HAMAKER, B.R. Factors affecting sorghum protein digestibility. **Journal of Cereal Science**, v.38, p.117-131, 2003.
- EIFERT, E.C.; LANA, R.P.L.; LANNA, D.P.D.; et al. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e monensina no início da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.219-228, 2006.
- FONTENOTE, J.P.; BOVARD, K.P.; OLTGEN, R.; RAMSEY, T.S.; PRIODE, B.M. Supplementation of apple pomace with non-protein nitrogen for gestation beef cow. Feed intake and performance. **Journal of Animal Science**, v.45, p.513-522, 1977.

- GOBERT, M.; MARTIN, B.; FERLAY, A.; et al. Plant polyphenols associated with vitamin e can reduce plasma lipoperoxidation in dairy cows given n-3 polyunsaturated fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.6095–6104, 2009.
- GRANDE, P.A.; SANTOS, N.W.; SANTOS, G.T.; et al. Digestibilidade *in vitro* da silagem de resíduo de uva com diferentes níveis de uréia e dias de ensilagem. In: 47 reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010, Salvador. **Anais...** 47 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010.
- ISHIMOTO, E.Y. **Efeito hipolipemiante e antioxidante de subprodutos da uva em hamsters**. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública-Universidade de São Paulo, 2008. 195p. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública-Universidade de São Paulo, 2008.
- LIMA, L.R.P.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J. Efeitos do flavonóide quercetina e dos corantes bixina e norbixina sobre parâmetros sanguíneos de coelhos. **Revista de Nutrição**, v.16, p.305-314, 2003.
- LOUSADA JUNIOR, J. E.; NEIVA, J. N. N.; RODRIGUEZ, N. M.; et al. Consumo e digestibilidade de subprodutos do processamento de frutas em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.659-669, 2005.
- LU, R.; SERRERO, G. Resveratrol, a Natural Product Derived From Grape, Exhibits Antiestrogenic Activity and Inhibits the Growth of Human Breast Cancer Cells. **Journal of Cellular Physiology**, v.179, p.297–304, 1999.
- MAKRIS, D.; BOSKOU, G.; ANDRIKOPOULOS, N.K.; Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.20, p.125-132, 2007.
- MENEZES, D.R.; ARAÚJO, G.G.L.; SOCORRO, E.P; et al. Níveis de ureia em dietas contendo co-produto de vitivinícolas e palma forrageira para ovinos Santa Inês. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.662-667, 2009.
- MERTENS, D.R. Análise da fibra e sua utilização na avaliação de alimentos e formulação de rações. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES, 29., 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: ESAL, 1992. p.188-219.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. Washington, D.C., 2001. 381p.
- NIGDIKAR, S.V.; WILLIAMS, N.R.; GRIFFIN, B.A.; HOWARD, A.N. Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.68, p.258–265, 1998.
- NÖRNBERG, J.A.; MELLO, R.O.; et al. Características química-bromatológicas de silagens de resíduo de Uva. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia. 39., 2002, Recife. **Anais...** Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002.

- O'CONNELL, J.E.; FOX, P.F. Significance and Applications of Phenolic Compounds in the Production and Quality of Milk and Dairy Products: a review. **International Dairy Journal**, v.11, p.103–120, 2001.
- PALMQUIST, D.L.; JENKINS, T.C. Fat in Lactation Rations: Review. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1-14, 1980.
- PARK, C.F.; JACOBSON, N.L. Glândula Mamária e Lactação. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. Guanabara: 1996. p.645-659.
- PASCHOAL, J.J. **Efeito da dieta contendo alta inclusão de soja extrusada e fonte orgânica de selênio sobre a composição, teor de CLA, perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite de vacas holandesas**. Pirassununga: Universidade de São Paulo, 2007. 79p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade de São Paulo, 2007.
- POGLIANI, F.C.; BIRGEL JÚNIOR, E. Valores de referência do lipidograma de bovinos da raça holandesa, criados no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.44, p.373-383, 2007.
- R Development Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing. ISBN 3-900051-07-0, URL <www.R-project.org>, Vienna, Austria, 2010.
- SHI, J.; YU, J.; POHORLY, J.E.; KAKUDA, Y. Polyphenolics in Grape Seeds-Biochemistry and Functionality. **Journal of Medicinal Food**, v.6, p.291–299, 2003.
- SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.<sup>ed</sup>. Viçosa: UFV, 2002. 235p.
- SOARES, M.; WELTER, L. KUSKOSKI, E.M.; et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.59-64, 2008.
- TIMMONS, J.S.; WEISS, W.P.; PALMQUIST, D.L.; HARPER, W.J. Relationships Among Dietary Roasted Soybeans, Milk Components, and Spontaneous Oxidized Flavor of Milk. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.2440-2449, 2001.
- TOSTO, M.S.L.; ARAÚJO, G.G.L.; OLIVEIRA, R.L.; et al. Composição química e estimativa de energia da palma forrageira e do resíduo desidratado de vitivinícolas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, p.239-249, 2007.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.<sup>ed</sup>. Ithaca: Cornell University Press. 1994. 476p.
- WEISS, W. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers, 61, 1999, **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1999. p.176-185.

ZALIKARENAB, L.; PIRMOHAMMADI, R.; TEIMURIYANSARI, A. Chemical composition and digestibility of dried white and red grape pomace for ruminants. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.6, p.1107-1111, 2007.

## **II. Produção, Qualidade e Estabilidade Oxidativa do Leite de Vacas da Raça Holandesa Alimentadas com Níveis de Silagem de Resíduo de Uva em Dietas com Óleo de Soja**

**Resumo:** Objetivou-se avaliar a produção, composição, composição de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite de vacas da raça Holandesa confinadas, alimentadas com dieta controle com 4% de óleo de soja, dieta com 4% de óleo de soja e 5% de silagem de resíduo de uva, dieta com 4% de óleo de soja e 7,5% de silagem de resíduo de uva, dieta com 4% de óleo de soja e 10% de silagem de resíduo de uva. Foram utilizadas quatro vacas lactantes com peso vivo médio de  $504 \pm 26$  kg e  $136 \pm 28$  dias de lactação, distribuídas em um quadrado latino com quatro tratamentos e quatro períodos de 21 dias cada. As análises dos dados mostram que não foram observadas diferenças ( $P > 0,05$ ) na produção de leite e produção de leite corrigida para 3,5% de gordura com as dietas experimentais. Os componentes do leite não foram alterados, entretanto, houve redução ( $P = 0,05$ ) dos teores de N-ureico com os níveis 7,5% e 10% de silagem de resíduo de uva na matéria seca. Também não houve efeito ( $P > 0,05$ ) dos tratamentos sobre a composição de ácidos graxos individuais e as proporções de ácidos graxos. As concentrações de polifenóis no leite com a inclusão da silagem de resíduo de uva não foram significativas, assim como o teor de flavonoides ( $P > 0,05$ ). O parâmetro de força de redução do leite foi afetado pelas dietas ( $P = 0,002$ ) e o nível 10% de silagem de resíduo de uva apresentou maior força de redução. Porém, esta maior atividade antioxidante do leite não resultou em menor produção de hidroperóxidos dieno conjugados ( $P > 0,05$ ) indicando que estudos são necessários no sentido de determinar a razão adequada entre antioxidantes e ácidos graxos insaturados para prevenir a oxidação do leite.

**Palavras-chave:** ácido graxo, antioxidante, resíduo de uva, silagem, produção de leite

## **Production, Quality and Oxidative Stability of Milk from Holstein Cows Fed with Grape Residue Silage Levels in Diets with Soybean Oil**

**Abstract:** The objective was to evaluate the production, composition, fatty acid composition and oxidative stability of milk from Holstein cows confined and fed with control diet of 4% soybean oil, diet with 4% soybean oil and 5% silage grape residue, diet with 4% soybean oil and 7.5% of grape residue silage, diet with 4% soybean oil and 10% silage grape residue. There were used four lactating cows with average weight of  $504 \pm 26$  kg and  $136 \pm 28$  days of lactation. They were assigned in a Latin square with four treatments and four periods of 21 days each. Data analysis showed that there were no differences ( $P>0.05$ ) on milk production and milk yield corrected to 3.5% fat with the experimental diets. Milk components were not changed, however, decreased ( $P=0.05$ ) the levels of N-urea with levels 7.5% and 10% silage grape residue on dry matter. There was also no effect ( $P>0.05$ ) of treatments on the individual fatty acid composition and proportions. The concentrations of polyphenols in milk with the addition of grape residue silage were not significant, as the flavonoid content ( $P>0.05$ ). The parameter of power reduction of milk was affected by diet ( $P=0.002$ ) and level 10% silage grape residue showed higher power reduction. However, this increased antioxidant activity of milk did not result in lower production of conjugated diene hydroperoxides ( $P>0.05$ ) indicating that studies are needed in order to determine the proper ratio between unsaturated fatty acids and antioxidants to prevent oxidation of milk.

**Key words:** antioxidant, fatty acid, grape residue, milk production, silage

## Introdução

O leite bovino e os produtos lácteos são alimentos comuns e essenciais à maioria da população. A busca por melhoria em sua qualidade é crescente, de modo que apresente boas características nutritivas e também substâncias benéficas à saúde do consumidor.

A proporção com que os ácidos graxos são incorporados na gordura do leite pode ser alterada através da dieta de vacas leiteiras, principalmente pela suplementação com óleos vegetais e grãos de oleaginosas (Kennelly et al., 1996), com modificação da razão entre ácidos graxos de cadeia curta e longa e o grau de insaturação da gordura. O uso do óleo de soja tem sido efetivo no aumento do teor de ácido linoleico conjugado (CLA) no leite (Eifert et al., 2006; AlZahal et al., 2008) em razão do seu alto teor de ácido linoleico.

A produção de leite com melhor proporção em ácidos graxos da gordura é muito importante, entretanto, esse fator altera a suscetibilidade da gordura à deterioração pelo fato de os ácidos graxos insaturados serem mais instáveis (Timmons et al., 2001). O processo de oxidação resulta na produção de aroma e sabor desagradáveis nos produtos lácteos, tornando-os inaceitáveis ao consumo. Granelli et al. (1998) associam a razão para a ocorrência de sabor oxidado no leite à maior proporção do ácido graxo 18:1*trans* e 18:2.

Estudos já foram realizados no intuito de melhorar a estabilidade oxidativa do leite, particularmente na avaliação do  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno como antioxidante (Atwal et al., 1991; Havemose et al., 2004; Havemose et al., 2006; Slots et al., 2007), isoflavonas (King et al., 1998), selênio orgânico (Paschoal et al., 2007). Petit et al. (2009) suplementaram vacas leiteiras com 20% de casca de linhaça na matéria seca e verificaram aumento na concentração de enterolactona, lignana mamífera oriunda de lignana vegetal da casca de linhaça, no leite. Essa substância tem sido relatada como portadora de alta atividade antioxidante e estudos a associam a menor incidência de doenças cardiovasculares, câncer e osteoporose.

A uva (*Vitis sp.*) tem sido extensivamente caracterizada quanto aos teores de compostos antioxidantes (Negro et al., 2003; Montealegre et al., 2006; Llobera & Cañellas, 2007; Soares et al., 2008), assim como seus produtos derivados como sucos e vinhos (Malacrida & Motta, 2005; Hogan et al., 2009). O resíduo de uva é o material resultante da prensagem de uvas, composto por cascas e sementes, produzido em grande



quantidade nas regiões vinícolas. Apresenta as mesmas propriedades antioxidantes da uva (Makris et al., 2007), com potencial para utilização nas dietas de ruminantes como fonte desses compostos.

Assim, objetivou-se neste estudo avaliar o efeito do fornecimento de silagem de resíduo de uva em dietas com óleo de soja, para vacas em lactação, sobre produção, composição, qualidade e estabilidade oxidativa do leite.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido no setor de Bovinocultura de leite da Fazenda Experimental de Iguatemi, do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá. Foram utilizadas quatro vacas da raça Holandesa, primíparas, com  $136 \pm 28$  dias de lactação, peso vivo médio de  $504 \pm 26$  kg. Esses animais foram distribuídos em quadrado latino  $4 \times 4$ , com quatro períodos experimentais de 21 dias cada, com 14 dias para adaptação e sete dias para coleta.

As vacas permaneciam confinadas em baias individuais, com alimentação fornecida duas vezes ao dia, às 8h e 16h, em média 2,9% de matéria seca em relação ao peso vivo, com a quantidade de alimento ajustada para obter 100 g/kg de sobras. A razão volumoso:concentrado foi de 60:40, objetivando que as dietas fossem isonitrogenadas e teores semelhantes de extrato etéreo, de modo a atender as exigências nutricionais de vacas em lactação, conforme NRC (2001). A dieta era composta de silagem de milho como volumoso, concentrado e diferentes níveis de silagem de resíduo de uva. O concentrado foi composto de farelo de soja, milho moído, farelo de trigo, óleo de soja refinado e ureia (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição química dos alimentos utilizados nas rações

Alimentos	%					
	MS <sup>1</sup>	PB	EE	FDN	Ca	P
Silagem de milho	20,5	8,4	2,92	50	0,52	0,16
Silagem de resíduo de uva	33	27	10,8	50	0,345	0,22
Farelo de soja	89,62	52,46	2,27	12,96	0,41	0,62
Milho moído	89,13	8,42	4,45	14,67	0,023	0,31
Farelo de trigo	89	18,4	4,61	10,67	0,14	0,98
Óleo de soja refinado	100		100			
Ureia	100		281			

<sup>1</sup> MS= Matéria seca, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, FDN= fibra em detergente neutro, Ca= cálcio, P = fósforo.

Os tratamentos estudados foram os seguintes (Tabela 2): dieta controle com óleo de soja (BU0), dieta com óleo de soja + 5% de silagem de resíduo de uva (BU5), dieta com óleo de soja + 7,5% de silagem de resíduo de uva (BU7,5) e dieta com óleo de soja + 10% de silagem de resíduo de uva (BU10).

TABELA 2 – Composição percentual (% da MS) das dietas experimentais: controle sem silagem de resíduo de uva, 5% de silagem de resíduo de uva, 7,5% de silagem de resíduo de uva e 10% de silagem de resíduo de uva

Ingredientes	Tratamentos			
	0%	5%	7,5%	10%
Silagem de milho	60	55	52,5	50
Silagem de resíduo de uva	-	5	7,5	10
Farelo de soja	15,30	16,80	15,80	14,30
Milho moído	9,80	14,70	15,80	18,00
Farelo de trigo	6,0	-	-	-
Óleo de soja refinado	4,0	4,0	4,0	4,0
Ureia	0,4	-	-	-
Suplemento mineral vitamínico*	2,80	2,80	2,80	2,80
Bicarbonato de sódio	0,64	0,60	0,64	0,40
Fosfato Bicálcico	0,45	0,55	0,45	0,37
Sal Comum	0,05	0,05	0,05	0,03
Composição química (% da MS)				
MS % <sup>a</sup>	50,30	50,51	50,86	51,35
MO %	86,35	86,39	86,45	86,63
PB %	14,61	14,49	14,13	14,30
EE %	6,74	7,10	7,32	7,57
FDN %	34,65	33,97	34,21	34,37
FDA %	21,58	22,25	22,89	23,37
CNF % <sup>b</sup>	37,50	38,17	37,86	38,00
Cinzas %	6,50	6,27	6,48	5,76
NDT <sup>c</sup>	74,15	69,05	68,09	63,45
EL <sub>L</sub> <sup>d</sup>	1,70	1,57	1,55	1,43

\*Ca: 156 g/kg; P: 51 g/kg; S: 20 g/kg; Mg: 33 g/kg; Na: 93 g/kg; K: 28 g/kg; Co: 30 mg/kg; Cu: 400 mg/kg; Cr: 10 mg/kg; Fe: 2.000 mg/kg; I: 40 mg/kg; Mn: 1.350 mg/kg; Se: 15 mg/kg; F: 510 mg/kg; Zn: 1.700 mg/kg; Monensina sódica: 480 mg/kg.

<sup>a</sup> MS= Matéria seca, MO= Matéria orgânica, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, FDN= fibra em detergente neutro, FDA= fibra em detergente ácido

<sup>b</sup>CNF (%) = 100 – (FDN + PB + EE + cinzas) (Weiss, 1999)

<sup>c</sup>NDT (%) = PBD + FDND + CNFD + (EED x 2,25) (Weiss, 1999)

<sup>d</sup>EL<sub>L</sub> (mcal/kg) = 0,0245 x NDT (%) – 0,12 (NRC, 2001)

O resíduo de uva utilizado, composto por cascas e sementes, era predominante da variedade Isabel (Tabela 3), resultante da produção de suco de uva da Cooperativa Agroindustrial de Rolândia (Corol) – PR. Após prensagem na indústria, o material foi transportado até as dependências da Fazenda Experimental de Iguatemi e procedeu à ensilagem do material que continha 28% de matéria seca. Os silos utilizados eram feitos

de alvenaria com volume de 1,8 m<sup>3</sup>, a compactação foi realizada por pisoteamento resultando em densidade de 720 kg/m<sup>3</sup>. Com base em um estudo realizado pelo grupo de pesquisa anteriormente (Grande et al., 2010) adicionou-se ao resíduo de uva 1% de ureia com base na matéria verde e o silo foi aberto após 30 dias de ensilagem visando obter adequada digestibilidade. Após a compactação, os silos foram vedados com lona preta e tiras de borracha.

TABELA 3 – Composição química e em ácidos graxos da silagem de resíduo de uva  
Composição química (% da MS)

Matéria seca	33,70
Matéria orgânica	91,37
Extrato etéreo	10,50
Proteína bruta	20,58
Fibra em detergente neutro	58,36
Fibra em detergente ácido	43,14
Celulose	33,00
Hemicelulose	15,22
Lignina	10,14
Carboidratos não fibrosos	7,76
NIDN/NT	69,60 <sup>a</sup>
NIDA/NT	25,00 <sup>b</sup>
Cinzas	2,81
Energia Bruta <sup>c</sup>	5,49
Ácidos graxos (% do total)	
16:0	12,51
18:0	4,43
18:1 <sup>cis</sup> 9	19,21
18:2 <sup>cis</sup> 6	61,15
18:3 <sup>cis</sup> 3	1,41
AGPI <sup>d</sup>	63,47
AGMI <sup>e</sup>	19,21
AGS <sup>f</sup>	17,32
Ômega 6	62,01
Ômega 3	1,46
Ômega 6:ômega 3	42,43
Polifenóis totais (mg EAG/100mg base seca) <sup>g</sup>	1.517,04
Flavonoides (mg EQ/100mg base seca) <sup>h</sup>	228,40

<sup>a</sup>NIDN/NT: nitrogênio insolúvel em detergente neutro, em % do nitrogênio total; <sup>b</sup>NIDA/NT: nitrogênio insolúvel em detergente ácido, em % do nitrogênio total; <sup>c</sup>Energia Bruta: Kcal/kg; <sup>d</sup>AGPI: ácidos graxos poli-insaturados; <sup>e</sup>AGMI: ácidos graxos monoinsaturados; <sup>f</sup>AGS: ácidos graxos saturados; <sup>g</sup>EAG: equivalente ácido gálico; <sup>h</sup>EQ: equivalente quercetina.

As vacas foram ordenhadas mecanicamente e a produção leiteira dos animais medida diariamente pelo sistema coletor de leite nas ordenhas da manhã e da tarde. Nos décimo quinto e décimo sexto dias de cada período experimental foram coletadas

amostras de leite compostas proporcionais à produção da manhã e da tarde dos animais, acondicionadas em frascos de polietileno identificados contendo conservante bromopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol) para posterior análise de gordura, proteína, lactose, nitrogênio ureico, sólidos totais e contagem de células somáticas.

As análises dos componentes do leite foram realizadas no laboratório do Programa de Análises de Rebanhos Leiteiros da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa em Curitiba –PR. A determinação das concentrações de nitrogênio-ureico, gordura e lactose no leite foram realizadas utilizando espectrofotômetro (Bentley 2000; Bentley Instrument, Inc., Chaska, MN). A contagem de células somáticas foi obtida utilizando um contador eletrônico (Somacount 500®, Chaska, MN) conforme descrito por Voltolini et al. (2001).

No momento da coleta de leite, foi mensurada a densidade pelo uso do termolactodensímetro (AOAC, 1984). Foram colhidas amostras de leite em frascos de polietileno e conservadas a -10°C para análise da composição de ácidos graxos da gordura e análises de avaliação da estabilidade oxidativa do leite.

Para a análise de composição de ácidos graxos a gordura do leite foi extraída por centrifugação (Murphy et al., 1995) e esterificada conforme método 5509 da ISO (1978) com KOH/metanol e n-heptano.

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados por cromatografia gasosa (Cromatógrafo Trace GC Ultra, Thermo Scientific, EUA) auto-amostrador, equipado com detector de ionização de chama a 240°C e coluna capilar de sílica fundida (100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,20 µm, Restek 2560). O fluxo de gases foi de 1,5 mL/min de H<sub>2</sub> (gás de arraste), 30 mL/min para N<sub>2</sub> (gás auxiliar) e 35 e 350 mL/min, respectivamente, para o H<sub>2</sub> e ar sintético (gases para chama). A temperatura inicial da coluna foi estabelecida em 65°C, mantida por 8 minutos, elevada até 170°C a uma taxa de 50°C/min, mantida por 40 minutos, chegando a 240°C de temperatura final, sendo elevada a uma taxa de 50°C/min e mantida por 28,5 minutos. A quantificação dos ácidos graxos da amostra foi efetuada por comparação com o tempo de retenção de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras padrões (Sigma Aldrich).

O teor de polifenóis no leite foi determinado empregando o reagente de Folin-Ciocalteu e PVPP (poly-vinylpolypyrrolidone). O leite foi misturado com metanol (100%) para precipitação das proteínas e o sobrenadante filtrado (porosidade 0,22 µm, diâmetro 33 mm); em seguida, o soro foi analisado para determinar o teor de polifenóis

totais de acordo com o procedimento Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965), que consiste em adicionar 125  $\mu\text{L}$  de soro, 125  $\mu\text{L}$  de Folin-Ciocalteu (50%) com 2.250  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (28g/L). A amostra é agitada e incubada por 30 minutos à temperatura ambiente. A absorção a 760 nm foi mensurada usando espectrofotômetro UV-Vis (Spectrum SP2000, Shanghai Spectrum, China); o teor de polifenóis no soro foi expresso como equivalente em ácido gálico ( $\mu\text{g}$  EAG/mL). Em seguida, para remover os compostos fenólicos do soro, o PVPP foi adicionado em concentração de 10 mg/mL e agitado periodicamente por 3 horas em temperatura ambiente. A mistura foi centrifugada a 21.433 g a 4°C por 30 minutos, uma alíquota do sobrenadante foi filtrada e mensurada de acordo com o procedimento Folin-Ciocalteu. A concentração de compostos fenólicos no soro foi determinada pela diferença antes e depois do tratamento com PVPP, esse composto é um polímero sintético usado para adsorver compostos fenólicos em bebidas através de interações com polifenóis mediada por ligações de hidrogênio entre as ligações CO–N e grupos fenólicos (Doner et al., 1993). Para análise da silagem de resíduo de uva foi realizado o mesmo procedimento com extrato metanólico da amostra.

A determinação dos teores de flavonoides no leite foi feita por complexação desses compostos com cloreto de alumínio, segundo Buriol et al. (2009). O leite foi misturado com metanol (100%) para precipitação das proteínas e o sobrenadante filtrado (porosidade 0,22  $\mu\text{m}$ , diâmetro 33 mm); em seguida, misturaram-se 500  $\mu\text{L}$  do soro com 250  $\mu\text{L}$  de cloreto de alumínio (5%, m/v) em metanol e 4,25 mL de metanol (90%). As amostras foram incubadas à temperatura ambiente por 30 minutos, em seguida realizaram as medidas de absorbância em 425 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Spectrum SP2000, Shanghai Spectrum, China). O composto padrão utilizado para calibração da curva foi a quercetina, os resultados expressos como equivalente de quercetina ( $\mu\text{g}$  EQ/mL). Para análise da silagem de resíduo de uva foi realizado o mesmo procedimento com extrato metanólico da amostra.

A capacidade antioxidante do leite foi determinada pela técnica da Força de Redução aos Íons Férricos conforme descrito em Zhu et al. (2002), com algumas modificações. Primeiramente, o leite foi misturado com ácido tricloroacético (20%) para precipitação das proteínas, permanecendo em repouso por 10 minutos. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 1.058 g, por 10 minutos a 20°C. Em tubos protegidos da luz, uma alíquota do soro do leite (1 mL) foi misturada a 2,5 mL de solução tampão

fosfato (50 mmol/L, pH 7,0) e 2,5 mL de ferricianeto de potássio  $[K_3Fe(CN)_6]$  (1%); posteriormente, incubadas a 50°C, por 20 minutos. Depois, 2,5 mL de ácido tricloroacético (10%) foram adicionados à mistura e, então centrifugados a 1.058 g, por 10 minutos. Finalmente, 2,5 mL do sobrenadante foram misturados com 0,25 mL de  $FeCl_3$  (0,1%) e a absorbância mensurada a 700nm em um espectrofotômetro UV-Vis (Spectrum SP2000, Shanghai Spectrum, China). O ácido gálico foi utilizado como padrão para calibração da curva, os resultados expressos como teor de redutores equivalentes ao ácido gálico ( $\mu g$  EAG/mL).

Para avaliação de produtos formados na reação de oxidação foram mensurados hidroperóxidos dieno conjugados (DC), segundo Kiokias et al. (2006). A amostra de leite (50  $\mu L$ ) foi adicionada à mistura de 2,5 mL de isooctano/2-propanol (2:1 v/v) e agitados por 10 segundos. A absorbância foi mensurada a 232 nm usando espectrofotômetro UV-Vis (Spectrum SP2000, Shanghai Spectrum, China). Para diminuir a interferência das proteínas do leite no espectro, foi realizada filtragem com filtros de membrana para seringa (porosidade 0,22  $\mu m$ , diâmetro 33 mm) antes da leitura. A quantidade de DC é calculada pela seguinte equação:

$$DC(\text{mmol/kggordura}) = (A/27) / [(a * b) / 100000 * (c + b/1000)]$$

Em que,  $A$ : absorbância a 232 nm;  $a$ : teor de gordura da amostra (%);  $b$ : volume de amostra ( $\mu L$ );  $c$ : volume de solvente (mL).

Avaliou-se o tamanho de partícula de forragem, ração total misturada (RTM) e sobras (Tabela 6) com o uso do separador de partículas Penn State (Heinrichs, 1996) com duas peneiras: a superior retém partículas de tamanho 19-38 mm, o meio retém o tamanho 7,8-19 mm e o compartimento do fundo acumula partículas menores de 7,8 mm; como ferramenta complementar na interpretação dos dados.

A análise dos resultados foi realizada com o uso do software R versão 2.12.0 (2010), considerou-se os dados em um modelo linear para efeitos mistos aplicável ao quadrado latino, com análise de variância e regressão e ajuste das equações segundo o modelo  $Y = \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i$ , quando significativo ao nível de 5% de probabilidade. As médias dos tratamentos foram comparadas com as médias controle pelo teste Dunnett, com a significância declarada a 5% de probabilidade.

## Resultados e discussão

### *Produção e composição do leite*

Observa-se na Tabela 4, que a produção diária de leite não foi influenciada pela inclusão da silagem de resíduo de uva nas dietas, assim como a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura ( $P>0,05$ ).

Os teores de gordura no leite não foram afetados pelos tratamentos avaliados, no entanto, os valores foram baixos em todos os tratamentos (média 2,27%) se comparados ao teor padrão 3,5% produzido por vacas da raça Holandesa (González, 2001). Esse teor reduzido de gordura no leite observado no trabalho pode ter ocorrido em função do elevado teor de EE da dieta, média 7,2% na matéria seca que, segundo Palmquist & Jenkins (1980), exerce efeitos depressores sobre a fermentação ruminal como a formação de barreira física da fibra com a gordura impedindo ataque microbiano e modificação da população microbiana ruminal. Como resultado, a diminuição na produção dos precursores de ácidos graxos para síntese *de novo* na glândula mamária (Palmquist & Mattos, 2006).

TABELA 4 - Produção e composição do leite de vacas da raça Holandesa alimentadas com dieta controle sem silagem de resíduo de uva, 5% de silagem de resíduo de uva, 7,5% de silagem de resíduo de uva e 10% de silagem de resíduo de uva

	Tratamentos				Valor-P		EP
	0%	5%	7,5%	10%	L	Q	
	kg/dia						
PL <sup>a</sup>	14,45	14,42	14,37	14,65	0,96	0,95	2,30
PLC <sup>b</sup>	11,50	11,50	11,42	11,48	0,98	0,99	1,61
Gordura	0,32	0,32	0,32	0,32	0,99	0,99	0,07
Proteína	0,51	0,52	0,50	0,53	0,95	0,98	0,04
	%						
Gordura	2,30	2,30	2,30	2,18	0,73	0,59	0,12
Proteína	3,64	3,66	3,55	3,65	0,91	0,92	0,23
Lactose	4,50	4,46	4,52	4,47	0,96	0,98	0,07
Sólidos totais	11,41	11,38	11,32	11,28	0,91	0,98	0,33
N-ureico <sup>c</sup>	11,29a	10,04a	8,89b	8,87b	0,04	0,26	0,82
Densidade <sup>d</sup>	1032,12	1032,25	1031,97	1032,85	0,78	0,68	0,96
ECS <sup>e</sup>	2,48	2,42	2,84	1,82	0,47	0,34	0,5

<sup>a</sup>Produção de leite; <sup>b</sup>Produção de leite corrigida para 3,5% de gordura =  $(0,432 + 0,1625 \times \% \text{ gordura}) \times$  produção de leite (kg/dia) (Sklan et al., 1992); <sup>c</sup>Nitrogênio ureico mg/dL,  $\hat{y} = 11,248 - 0,2621x$  ( $r^2=0,39$ ); <sup>d</sup>Densidade g/mL; <sup>e</sup> ECS= escore de células somáticas  $\log_{10}$ CCS. Valores de P para efeito linear (L) e quadrático (Q); EP – erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferem do controle pelo Teste Dunnett ( $p<0,05$ ).

A redução no teor de gordura do leite também pode estar relacionada com o inadequado tamanho de partícula do volumoso observado durante o curso do experimento. Os valores da Tabela 5 são referentes à separação de partículas da silagem, das dietas experimentais e sobras. Como pode ser observado, o tamanho médio de partícula das dietas não foi adequado se comparado às recomendações de Heinrichs (1996). A silagem de milho apresentou alta proporção de partículas entre 19-38 mm e baixa proporção dos tamanhos 7,8-19 mm e tamanho menor de 7,8 mm. A ração total teve as mesmas características, assim como as sobras. Isso pode ter resultado na seleção dos animais por partículas menores e refugo das partículas maiores, como exposto nos valores de sobras. Possivelmente, uma baixa ingestão de fibra, apesar de os teores médios de FDN (34,65%) e FDA (22,52%) das dietas experimentais suprirem as exigências em fibra de vacas leiteiras. A presença de fibra fisicamente efetiva na dieta de vacas leiteiras é importante para estimulação da mastigação e ruminação para manter ambiente favorável aos microrganismos responsáveis pela degradação dos carboidratos fibrosos (Allen, 1996).

Tabela 5 – Distribuição (%) por tamanho de partículas da silagem de milho, dieta controle sem silagem de resíduo de uva, dieta com 5% MS de silagem de resíduo de uva, 7,5% de silagem de resíduo de uva, 10% de silagem de resíduo de uva e respectivas sobras, pelo método Penn State

	Silagem de milho				
	Recomendação <sup>1</sup>	Resultados obtidos			
Superior (19-38 mm)	10-15	34			
Meio (7,8-19 mm)	40-50	35			
Fundo (<7,8 mm)	40-50	31			
	Ração total misturada				
	Recomendação <sup>1</sup>	0%	5%	7,5%	10%
Superior (19-38 mm)	6-10	24	25	27	24
Meio (7,8-19 mm)	30-50	31	36	33	35
Fundo (<7,8 mm)	40-60	45	39	40	41
	Sobras				
		0%	5%	7,5%	10%
Superior (19-38 mm)		34	30	33	19
Meio (7,8-19 mm)		41	40	38	40
Fundo (<7,8 mm)		25	30	29	41
Consumo médio MS <sup>2</sup>		2,90	2,92	2,86	2,83
Consumo médio FDN <sup>2</sup>		0,92	0,91	0,87	0,88

<sup>1</sup>Heinrichs (1996); <sup>2</sup>Em relação ao peso vivo.



No presente estudo, um possível consumo reduzido de fibra fisicamente efetiva na dieta pode ter intensificado os efeitos do óleo de soja nos teores de gordura do leite. O consumo médio de FDN foi 0,89 %PV, inferior ao reportado por Mertens (1992) de 1,2 %PV de FDN, considerado ideal para vacas leiteiras. De acordo com Griinari et al. (1998) dietas que induzem alteração no ambiente ruminal pelo baixo teor de fibra aumentam a via da biohidrogenação do ácido linoleico para os isômeros CLA 18:2 *trans*10,*cis*12 e 18:1 *trans*10 (Griinari et al., 1998), relacionados à depressão da gordura do leite.

A concentração média de gordura do leite (2,27%) obtida em experimento foi baixa se comparada a com o teor mínimo estabelecido pela Instrução Normativa 51 (IN 51) de 3,0% (MAPA, 2002). Por se tratar de leite de melhor qualidade de gordura produzido em condições especiais de alimentação, há a necessidade de elaboração de um modo diferenciado de remuneração para produtores leiteiros que adotem esse sistema de produção.

A concentração e produção de proteína não foram afetadas pelos tratamentos experimentais ( $P > 0,05$ ). Em geral, o teor médio de proteína do leite (3,63%) foi alto se comparado, com os teores típicos produzidos por vacas da raça Holandesa (3,2%, DePeters & Cant, 1992).

A concentração de lactose no leite não foi afetada pelas dietas experimentais ( $P > 0,05$ ). A quantidade de lactose sintetizada nas células alveolares tem função de regulação osmótica na síntese do leite. Sua concentração é balanceada pela liberação de água do sangue e pela mistura com outros componentes do leite encontrados na cavidade alveolar (Park & Jacobson, 1996), portanto a síntese de lactose controla a quantidade de leite produzido.

A concentração de sólidos totais não foi alterada pelos tratamentos ( $P > 0,05$ ). Em média o teor foi 11,35%, inferior àqueles produzidos normalmente por vacas da raça Holandesa de 12,2% (Jensen, 1995) em razão da baixa concentração de gordura.

As dietas experimentais exerceram influência nos teores de nitrogênio ureico (N-ureico) do leite ( $P = 0,05$ ) de forma linear negativa. À medida que a proporção da silagem de resíduo de uva aumentou nas dietas, a concentração de N-ureico no leite diminuiu. Com a aplicação do teste de médias constatou-se que os níveis 7,5% e 10% com resultados de 8,89 mg/dL e 8,87 mg/dL de N-ureico, respectivamente, foram significativamente menores que os valores da dieta controle (11,30 mg/dL). O teor de

N-ureico no leite é indicativo do catabolismo proteico nos tecidos e no rúmen e indica se a concentração de proteína da dieta está adequada, segundo Torrent (2000) os valores devem estar entre 12-18 mg/dL em vacas com adequada ingestão de matéria seca.

Os teores de N-ureico no leite estão relacionados com a taxa de disponibilização no rúmen de fonte nitrogenada e energia para adequada utilização e crescimento dos microrganismos (DePeters & Cant, 1992). O efeito de redução da variável N-ureico no leite pode indicar alteração na síntese microbiana ruminal pela diminuição do valor energético das dietas contendo a silagem de resíduo de uva, como observado nos valores obtidos de NDT e EL<sub>L</sub>. Esse alimento também apresenta baixa qualidade de proteína (Tabela 3) com valores de NIDN de 2,29% MS e NIDA 0,83% MS sugerindo que parte do nitrogênio é associada à fração fibrosa ou aos polifenóis da uva. A silagem de resíduo de uva apresentou 1.517,04 mg EAG/100 mg (Tabela 3) e, segundo O'Connell & Fox (2001) esses compostos reduzem a digestibilidade da proteína por ligação direta e pela inibição de enzimas digestivas no trato digestório. A silagem de resíduo de uva já mostrou apresentar proteína de baixa digestibilidade “in vitro” de 28,12% no estudo de Grande et al. (2010).

A densidade não foi afetada pelos tratamentos estudados ( $P>0,05$ ) e foram observados valores médios 1032,30 g/mL em razão, provavelmente, aos baixos teores de gordura no leite, mas são valores adequados à exigência da IN 51 entre 1028-1034 g/mL para leite cru. A alimentação com silagem de resíduo de uva não afetou a contagem de células somáticas no leite ( $P>0,05$ ).

#### *Composição de ácidos graxos da gordura do leite*

Observa-se na Tabela 6, que não houve efeito significativo da inclusão da silagem de resíduo de uva sobre a concentração de nenhum ácido graxo ( $P>0,05$ ). A silagem de resíduo de uva apresenta 10,5% de EE, com alta proporção de ácidos graxos poli-insaturados, especialmente o ácido linoleico (61,15%) que não alteraram a concentração desses compostos no leite.

TABELA 6 - Composição de ácidos graxos no leite (percentagem do total de ácidos graxos) de vacas da raça Holandesa alimentadas com dieta controle sem silagem de resíduo de uva, 5% de silagem de resíduo de uva, 7,5% de silagem de resíduo de uva e 10% de silagem de resíduo de uva

	Tratamentos				Valor-P <sup>1</sup>		EP
	0%	5%	7,5%	10%	L	Q	
4:0	0,72	0,57	0,57	0,62	0,32	0,69	0,09
6:0	0,49	0,39	0,43	0,40	0,36	0,59	0,06
8:0	0,31	0,25	0,28	0,25	0,30	0,33	0,04
10:0	0,80	0,68	0,73	0,66	0,30	0,42	0,08
12:0	1,25	1,11	1,14	1,10	0,50	0,71	0,09
14:0	6,94	6,30	6,14	6,36	0,94	0,97	0,38
14:1 <i>cis</i> 7	0,48	0,45	0,44	0,40	0,08	0,13	0,03
14:1 <i>cis</i> 5	0,53	0,69	0,54	0,45	0,90	0,98	0,24
15:0	0,76	0,74	0,81	0,83	0,71	0,80	0,10
16:0	26,78	26,55	24,48	25,99	0,45	0,53	1,38
16:1 <i>cis</i> 9	0,84	0,87	0,86	0,84	0,96	0,99	0,05
16:1 <i>cis</i> 7	0,16	0,95	0,37	0,43	0,92	0,97	0,38
17:0	0,54	0,46	0,46	0,41	0,09	0,12	0,05
17:1	0,25	0,26	0,26	0,26	0,91	0,94	0,03
18:0	13,52	13,26	13,25	13,10	0,71	0,79	1,26
18:1 <i>trans</i> 9	6,03	7,39	8,35	7,68	0,33	0,46	1,51
18:1 <i>cis</i> 9	32,21	31,50	32,25	32,29	0,98	0,99	2,57
18:2 <i>trans</i> 6	0,43	0,56	0,51	0,57	0,39	0,49	0,10
18:2 <i>cis</i> 6	4,65	4,89	4,54	5,18	0,40	0,67	0,49
18:2 <i>cis</i> 9, <i>trans</i> 11	1,37	1,24	1,89	1,30	0,50	0,57	0,40
18:3 <i>cis</i> 3	0,44	0,44	0,49	0,45	0,88	0,96	0,08
20:0	0,18	0,19	0,20	0,18	0,89	1,00	0,02
20:2	0,14	0,12	0,15	0,14	0,87	0,94	0,01
22:2	0,16	0,22	0,19	0,19	0,36	0,41	0,03

<sup>1</sup> Valores de P para efeito linear (L) e quadrático (Q); EP – erro padrão da média.

No presente trabalho, a suplementação lipídica proporcionou altas concentrações de ácido linoleico no rúmen que, certamente, superaram a capacidade de biohidrogenação completa pelos microrganismos e grande quantidade de intermediários desse processo foi absorvida pelo trato digestivo e incorporada à gordura do leite. Neste trabalho, a concentração média de CLA 18:2 *cis*9,*trans*11 foi 1,45%, alta se comparada com o teor de 0,21% no leite de vacas alimentadas com dieta com baixo teor de EE (Santos et al., 2001). De acordo com o mesmo autor, a inclusão de óleo de soja, para atingir 7% de EE na dieta de vacas leiteiras, resulta em altas concentrações de CLA na gordura do leite, pois não há proteção da matriz proteica contra a biohidrogenação como nos grãos de oleaginosas. Alguns intermediários do processo de biohidrogenação como

CLA 18:2 *trans*10,*cis*12 e 18:1 *trans*10 são envolvidos na diminuição de atividade das enzimas acetil-CoA carboxilase e ácido graxo sintetase, responsáveis pela síntese *de novo* dos ácidos graxos de cadeia curta e média (C4-C16) na glândula mamária (Piperova et al., 2000). Uma possível causa dos baixos teores de gordura observados, entretanto esses isômeros não foram dosados no presente estudo.

Na Tabela 7, observa-se que não houve efeito significativo ( $P>0,05$ ) da inclusão da silagem de resíduo de uva na dieta sobre a proporção dos ácidos graxos da gordura do leite, assim como na concentração de ácidos graxos individuais,.

TABELA 7 - Concentrações percentuais e razões de ácidos graxos agrupados no leite de vacas da raça Holandesa alimentadas com dieta controle sem silagem de resíduo de uva, 5% de silagem de resíduo de uva, 7,5% de silagem de resíduo de uva e 10% de silagem de resíduo de uva

	Tratamentos				Valor-P <sup>1</sup>		EP
	0%	5%	7,5%	10%	L	Q	
AGMI <sup>a</sup>	40,50	42,11	43,08	42,36	0,63	0,72	1,49
AGPI <sup>b</sup>	7,20	7,46	7,67	7,84	0,51	0,72	0,47
AGS <sup>c</sup>	52,29	50,51	49,50	49,90	0,19	0,64	1,41
AGPI:AGS	0,14	0,15	0,16	0,16	0,21	0,62	0,01
AGCC <sup>d</sup>	3,56	3,00	3,15	3,03	0,37	0,57	0,34
AGCM <sup>e</sup>	37,29	37,28	34,37	35,98	0,84	0,91	2,05
AGCL <sup>f</sup>	59,14	59,80	62,73	61,09	0,46	0,60	2,31
Ômega 3	0,44	0,44	0,49	0,45	0,88	0,99	0,08
Ômega 6	5,08	5,44	4,95	5,75	0,66	0,88	0,48
Ômega 6:ômega 3	11,65	12,60	10,91	12,89	0,81	0,99	1,20

<sup>a</sup>AGMI: ácidos graxos monoinsaturados; <sup>b</sup>AGPI: ácidos graxos poli-insaturados; <sup>c</sup>AGS: ácidos graxos saturados; <sup>d</sup>AGCC: ácidos graxos de cadeia curta (<14 carbonos); <sup>e</sup>AGCM: ácidos graxos de cadeia média (< 18 carbonos); <sup>f</sup>AGCL: ácidos graxos de cadeia longa (> 18 carbonos).

<sup>1</sup> Valores de P para efeito linear (L) e quadrático (Q); EP – erro padrão da média.

No consumo humano preconiza-se aumentar os ácidos graxos poli-insaturados; o típico leite de vaca é bastante criticado por apresentar em sua composição concentrações de 25% ácidos graxos monoinsaturados, 5% poli-insaturados e 70% de saturados. No presente estudo, a gordura do leite apresentou melhor perfil: altas concentrações de ácidos graxos monoinsaturados (42,01%) e poli-insaturados (7,54%) e reduzidas concentrações de saturados (50,55%).

A razão n-6:n-3 observada no leite foi alta (média 12,01) em relação à razão 4:1 recomendada para o consumo humano (Sim, 1998), em consequência do elevado teor de ácido linoleico das dietas proporcionado pelo óleo de soja.

O leite produzido neste experimento pode ser fonte de ácidos graxos poli-insaturados aos consumidores. Os altos teores de 18:1 *trans* e 18:2 *cis*<sup>9</sup>, *trans*<sup>11</sup> CLA certamente melhoram a qualidade nutritiva do leite (Kennelly, 1996; Kelly et al., 1998; Lock & Bauman, 2004; Liu et al., 2007). No entanto, o leite com esse perfil lipídico pode perder parte de suas propriedades benéficas visto que ácidos graxos providos de insaturações apresentam-se suscetíveis à oxidação e, segundo Araújo (2008) a configuração *cis* resulta em oxidação mais rápida do ácido graxo que seu isômero *trans*, e as ligações conjugadas (como no CLA) são mais reativas que as ligações não conjugadas.

#### *Estabilidade oxidativa do leite*

A análise dos dados mostra que apesar de haver concentrações crescentes de polifenóis no leite (Tabela 8), com a inclusão da silagem de resíduo de uva, não houve efeito significativo para esse parâmetro (P=0,09), assim como para o teor de flavonoides (P>0,05), possivelmente pela variação dos resultados. Os polifenóis totais incluem todas as classes de compostos, como ácidos fenólicos, estilbenos e flavonoides, mas no leite se encontram em uma forma química mais simples em relação à forma nativa. Segundo Manach et al. (2004) em ruminantes a microbiota ruminal efetua hidrólise dos polifenóis e metaboliza em vários ácidos aromáticos, possibilitando sua absorção. Essas reações são importantes na produção de metabólitos ativos como no caso das lignanas da linhaça, as lignanas mamíferas são encontradas nos fluidos biológicos, como plasma e leite (Gagnon et al., 2009).

TABELA 8 – Parâmetros de oxidação no leite de vacas da raça Holandesa alimentadas com dieta controle sem silagem de resíduo de uva, 5% de silagem de resíduo de uva, 7,5% de silagem de resíduo de uva e 10% de silagem de resíduo de uva

	Tratamentos				Valor-P		EP
	0%	5%	7,5%	10%	L	Q	
Polifenóis totais <sup>a</sup>	5.250	5.617	8.070	12.275	0,09	0,37	4,24
Flavonoides <sup>b</sup>	1.187	1.350	1.367	1.302	0,81	0,95	0,13
Força de redução <sup>ad</sup>	26,32a	26,24a	24,56a	44,62b	0,002	0,08	2,77
DC <sup>c</sup>	80,03	83,59	91,75	86,25	0,90	0,97	9,92

<sup>a</sup>Equivalente ácido gálico, µg/mL; <sup>b</sup>Equivalente quercetina, µg/mL; <sup>c</sup> DC: hidroperóxidos dieno conjugados, mmol/kg gordura; <sup>d</sup> Valores de P para efeito linear (L) e quadrático (Q); EP – erro padrão da média. <sup>d</sup> $\hat{y} = 22,531 + 1,405x$  ( $r^2 = 0,30$ ).

Médias seguidas de letras diferem do controle pelo Teste Dunnett (p<0,05).

O parâmetro de força de redução do leite foi afetado pelas dietas ( $P=0,002$ ) de forma linear positiva e pelo teste de médias o leite de vacas alimentadas com 10% de silagem de resíduo de uva apresentou força de redução significativamente maior ( $44,62 \mu\text{g EAG/mL}$ ) que o leite da dieta controle ( $26,32 \mu\text{g EAG/mL}$ ), portanto o leite de maior atividade antioxidante. A maior parte da atividade antioxidante não enzimática é mediada por reações redox (Zhu et al., 2002). A técnica da força de redução aos íons férricos mensura, em uma amostra, a quantidade de compostos que reduzem o ferro da forma férrica ( $\text{Fe}^{+3}$ ) para a forma ferrosa ( $\text{Fe}^{+2}$ ), ou seja, indica a capacidade desses compostos em doar elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis, com diminuição da oxidação lipídica. Esse resultado indica que os antioxidantes presentes na alimentação, submetidos aos processos de digestão e absorção no animal e posteriormente transferidos ao leite, conservam as características necessárias à capacidade de redução. Zhu et al. (2002) sugerem que há uma relação entre a quantidade de compostos fenólicos totais e força de redução. Apesar de não significativo, o leite do mesmo tratamento com 10% de silagem de resíduo de uva apresentou maior valor numérico na concentração de polifenóis.

Observa-se que não houve efeito significativo dos tratamentos sobre os teores de hidroperóxidos dieno conjugados (DC) ( $P>0,05$ ). Os valores de DC refletem a produção de hidroperóxidos primários principalmente do ácido linoleico durante a oxidação (Kiokias et al., 2006). No presente trabalho, a maior capacidade antioxidante no leite de vacas alimentadas com 10% de silagem de resíduo de uva indicaria que o mesmo apresentasse menor concentração de hidroperóxidos em relação à dieta controle, mas isso não foi observado. Possivelmente, o teor de substrato insaturado no leite esteja acima da capacidade antioxidante. Granelli et al. (1998) afirmam a hipótese de que o equilíbrio entre antioxidantes e ácidos graxos poli-insaturados é o principal determinante para o início da oxidação no leite. Um resultado semelhante foi observado por Slots et al. (2007), que afirmaram que antioxidantes agem como pró-oxidantes em situações de estresse oxidativo, com altos níveis de substratos oxidáveis como os ácidos linoleico e linolênico, além de íons metálicos. No trabalho citado, vacas suplementadas com soja tostada e  $\alpha$ -tocoferol produziram leite com concentração do antioxidante 29% superior em relação ao controle, entretanto, a intensa presença de  $\alpha$ -tocoferol e insaturação do leite resultaram em maior acúmulo de produtos de oxidação, como o hexanal.

Na Tabela 9, observa-se o valor estimado de transferência de antioxidantes para o leite, considerando a quantidade de silagem de resíduo de uva suplementada, quantidade de polifenóis totais provenientes dessa silagem e a produção de polifenóis totais no leite.

O conteúdo de polifenóis totais da silagem de resíduo de uva foi de 1.517,04 mg EAG/100 mg (Tabela 3), valor superior àquele reportado por Soares et al. (2008) de 1.026,69 mg EAG/100 mg em cascas de uva da variedade Isabel, provavelmente pela presença de sementes no material analisado.

TABELA 9 – Transferência de antioxidantes no leite de vacas da raça Holandesa alimentadas com dieta controle sem silagem de resíduo de uva, 5% de silagem de resíduo de uva, 7,5% de silagem de resíduo de uva e 10% de silagem de resíduo de uva

	Tratamentos				Valor-P <sup>1</sup>		EP
	0%	5%	7,5%	10%	L	Q	
Ingestão de MS <sup>a</sup>	14,46	14,73	14,03	14,71	ns	ns	0,59
Ingestão polifenóis <sup>b</sup>	nd	1.117,43	1.596,25	2.231,67	-	-	-
Produção de leite <sup>a</sup>	14,45	14,43	14,38	14,65	0,96	0,95	2,30
Polifenóis no leite <sup>c</sup>	5,25	5,62	8,07	12,27	0,09	0,37	4,24
Produção de polifenóis <sup>b</sup>	73,90	81,84	123,98	179,72	0,14	0,39	75,0
Transferência (%)		7,10	7,31	8,51	0,11	0,24	3,58

<sup>a</sup>kg/dia; <sup>b</sup>mg/dia; <sup>c</sup>mg/L; <sup>1</sup> Valores de P para efeito linear (L) e quadrático (Q); nd: não determinado; EP – erro padrão da média.

Os diferentes níveis da silagem de resíduo de uva proporcionaram maior ingestão de polifenóis pelos animais, mas essa ingestão não resultou em concentração estatisticamente superior desses compostos no leite. A produção de polifenóis no leite foi crescente à medida que houve maior consumo da silagem de resíduo de uva (P=0,14), sugerindo que maior proporção da silagem de resíduo de uva na dieta que aqueles estudados nesse trabalho podem resultar em eficiente transferência para o leite.

O cálculo da transferência de antioxidantes para o leite assume que esses compostos provêm somente da silagem de resíduo de uva. O valor máximo de transferência observada no leite com o tratamento contendo 10% do alimento foi 8,51% (P=0,11). Havemose et al. (2006) estimaram valores de transferência de antioxidantes semelhantes ao desse estudo e relataram grau de transferência de 8,6% de  $\alpha$ -tocoferol e 6,8% de  $\beta$ -caroteno da dieta ao leite de vacas alimentadas com silagem de trevo.

**Conclusões**

A alimentação de vacas leiteiras com silagem de resíduo de uva em dietas com óleo de soja não afetou a produção de leite. A inclusão da silagem de resíduo de uva não alterou a composição do leite, com exceção da redução dos teores de N-ureico. A composição em ácidos graxos no leite, não foi modificada com as dietas experimentais. A inclusão da silagem de resíduo de uva aumenta a atividade antioxidante do leite.



### Literatura citada

- ALLEN, M. S. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1447-1462, 1997.
- ALZAHAL, O.; ODONGO, N.E.; MUTSVANGWA, T.; 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.
- ARAÚJO, J.M.A. Oxidação de lipídios em alimentos. In: **Química de Alimentos**. UFV: 2008. p.16-122.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of Analysis**. 14.ed. Washington, 1984. 1041p.
- ATWAL, A.S.; HIDIROGLOU, M.; KRAMER, J.K.G. Effects of Feeding Protec® and  $\alpha$ -Tocopherol on Fatty Acid Composition and Oxidative Stability of Cow's Milk. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.140-145, 1991.
- 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**, 1999.
- BHATTACHARYA, A.; BANU, J.; RAHMAN, J.C.; FERNANDES, G. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.17, p.789-810, 2006.
- BURIOL, L.; FINGER, D.; SCHMIDT, E.M.; et al. Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma alternativa ao extrato etanólico. **Química Nova**, v.32, p.296-302, 2009.
- DEPETERS, E.J.; CANT, J.P. Nutritional Factors Influencing the Nitrogen Composition of Bovine Milk: A Review. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2043-2070, 1992.
- DONER, L. W., BECARD, G.; IRWIN, P. L. Binding of flavonoids by polyvinylpyrrolidone. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.41, 753-757, 1993.
- EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LANNA, D.P.D; et al. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e monensina no início da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.219-228, 2006.
- GONZÁLEZ, F.H.D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre, 2001, p.5-22.

- GRANDE, P.A.; SANTOS, N.W.; SANTOS, G.T.; et al. Digestibilidade *in vitro* da silagem de resíduo de uva com diferentes níveis de uréia e dias de ensilagem. In: 47 reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010, Salvador. **Anais...** 47 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010.
- GRANELLI, K.; BARREFORS, P.; BJÖRCK, L.; APPELQVIST, L.A. Further Studies on Lipid Composition of Bovine Milk in Relation to Spontaneous Oxidised Flavour. **Journal of Science Food and Agriculture**, v.77.p.161-171, 1998.
- GRIINARI, J. M.; DWYER, D.A.; MCGUIRE, M.A.; et al. *Trans*-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1251-1261, 1998.
- HAVEMOSE, M.S.; WEISBJERG, M.R.; BREDIE, W.L.P.; NIELSEN, J.H. Influence of feeding different types of roughage on the oxidative stability of milk. **International Dairy Journal**, v.14, p.563–570, 2004.
- HAVEMOSE, M.S.; WEISBJERG, M.R.; BREDIE, W.L.P.; et al. Oxidative Stability of Milk Influenced by Fatty Acids, Antioxidants, and Copper Derived from Feed. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.1970–1980, 2006.
- HEINRICHS, J. Evaluating particle size of forages and TMRs using the Penn State Particle Size Separator. **Dairy and Animal Science**, v.20, p.1-9, 1996.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION- ISO. **Animal and Vegetable Fats and Oils – Preparation of Methyl Esters of Fatty Acids**. Geneva, Switzerland: Method ISO 5509, 1978.
- JENSEN, R.G. Miscellaneous Factors Affecting Composition and Volume of Human and Bovine Milks. In: JENSEN, R.G. **Handbook of Milk Composition**. Academic Press, p. 237-271, 1995.
- 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.
- KELLY, M.L.; BERRY, J.R.; DWYER, D.A.; et al. Dietary Fatty Acid Sources Affect Conjugated Linoleic Acid Concentrations in Milk from Lactating Dairy. **Journal of Nutrition**, v.128, p.881–885, 1998.
- KING, R.A.; MANO, M.M.; HEAD, R.J. Assessment of isoflavonoid concentrations in Australian bovine milk samples. **Journal of Dairy Research**, v.65, p.479-489, 1998.
- KIOKIAS, S.N.; DIMAKOU, C.P.; TSAPROUNI, I.V.; OREOPOULOU, V. Effect of Compositional Factors against the Thermal Oxidative Deterioration of Novel Food Emulsions. **Food Biophysics**, v.3, p.115-123, 2006.

- LIU, S.; WANG, J.; BU, D.; et al. The Effect of Dietary Vegetable Oilseeds Supplement on Fatty Acid Profiles in Milk Fat from Lactating Dairy Cows. **Agricultural Sciences in China**, v.6, p.1002-1008, 2007.
- LOCK, A.L.; BAUMAN, D.E. Modifying Milk Fat Composition of Dairy Cows to Enhance Fatty Acids Beneficial to Human Health. **Lipids**, v.39, p.1197-1206, 2004.
- LOOR, J.J.; FERLAY, A.; OLLIER, A.; et al. High-Concentrate Diets and Polyunsaturated Oils Alter Trans and Conjugated Isomers in Bovine Rumen, Blood, and Milk. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.3986–3999, 2005.
- MAKRIS, D.; BOSKOU, G.; ANDRIKOPOULOS, N.K.; Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.20, p.125-132, 2007.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº51 de 18 de setembro de 2002. Diário Oficial (da República Federativa do Brasil), Brasília, set, 2002.
- MURPHY, J.J.; CONNOLLY, J.F.; McNEILL, G.P. Effects on milk fat composition and cow performance of feeding concentrates containing full fat rapessed and maize distillers grains on grass-silage based diets. **Production Science**, v.44, p.1-11, 1995.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. Washington, D.C., 381p., 2001.
- NICHOLSON, J.W.G.; ST-LAURENT, A. M.; MCQUEEN, R.E.; CHARMLEY, E. The effect of feeding organically bound selenium and  $\alpha$ -tocopherol to dairy cows on susceptibility of milk to oxidation. **Canadian Journal of Animal Science**, v.71, p.1181-1186, 1991.
- O'CONNELL, J.E.; FOX, P.F. Significance and Applications of Phenolic Compounds in the Production and Quality of Milk and Dairy Products: a review. **International Dairy Journal**, v.11, p.103–120, 2001.
- PALMQUIST, D.L.; MATTOS, W.R.S. Metabolismo de lipídios. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, p.292-294, 2006.
- PASCHOAL, J.J.; ZANETTI, M.A.; DEL CLARO, G.R.; et al. Perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite de vacas holandesas alimentadas com soja extrusada e selênio orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.1793-1799, 2007.
- PARK, C.F.; JACOBSON, N.L. Glândula Mamária e Lactação. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. Guanabara: 1996. p.645-659.

- PETIT, H.V.; CÔRTEZ, C.; SILVA, D.; et al. The interaction of monensin and flaxseed hulls on ruminal and milk concentration of the mammalian lignan enterolactone in late-lactating dairy cows. **Journal of Dairy Research**, v.76, p.475–482, 2009.
- PIPEROVA, L. S.; TETER, B. B.; BRUCKENTAL, I. et al. Mammary lipogenic enzyme activity, *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. **Journal of Nutrition**, v.130, p.2568–2574, 2000.
- R Development Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing. ISBN 3-900051-07-0, URL <www.R-project.org>, Vienna, Austria, 2010.
- SANTOS, F.L.; SILVA, M.T.C.; LANA, R.P.; et al. Efeito da Suplementação de Lipídios na Ração sobre a Produção de Ácido Linoléico Conjugado (CLA) e a Composição da Gordura do Leite de Vacas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1931-1938, 2001.
- SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, U.N. Methods of measuring oxidative rancidity in fats and oils. In: AKOH, C.C.; MIN, D.B. **Food Lipids: chemistry, nutrition and biotechnology**. New York: Marcel Dekker, p.377-396, 1998.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144–158, 1965.
- SLOTS, T.; SKIBSTED, L.H.; NIELSEN, J.H. The difference in transfer of all-rac- $\alpha$ -tocopherol stereo-isomers to Milk from cows and the effect on its oxidative stability. **International Dairy Journal**, v.17, p.737–745, 2007.
- SOARES, M.; WELTER, L. KUSKOSKI, E.M.; et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.59-64, 2008.
- TIMMONS, J.S.; WEISS, W.P.; PALMQUIST, D.L.; HARPER, W.J. Relationships Among Dietary Roasted Soybeans, Milk Components, and Spontaneous Oxidized Flavor of Milk. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.2440-2449, 2001.
- TORRENT, J. Nitrogênio ureico no leite e qualidade do leite. In: Simpósio Internacional sobre Qualidade do leite, 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba, 2000. p.27-29.
- TOSTO, M.S.L.; ARAÚJO, G.G.L.; OLIVEIRA, R.L.; et al. Composição química e estimativa de energia da palma forrageira e do resíduo desidratado de vitivinícolas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, p.239-249, 2007.

- VOLTOLINI, T.V., SANTOS, G.T., ZAMBOM, M.A. Influência dos estádios de lactação sobre a contagem de células somáticas do leite de vaca da raça holandesa e identificação de patógenos causadores de mastite no rebanho. **Acta Scientiarum**, v.23, p.961-966, 2001.
- WEISS, W.P. Effect of Dietary Vitamin C on Concentrations of Ascorbic Acid in Plasma and Milk. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.2302–2307, 2001.
- ZHU, Q.Y.; HACKMAN, R.M.; ENSUNSA, J.L.; et al. Antioxidative Activities of Oolong Tea. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.50, p.6929-6934, 2002.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inclusão da silagem de resíduo de uva não afetou a ingestão de alimentos, no entanto reduziu a digestibilidade da matéria seca e diminuiu a concentração energética da dieta. As concentrações de metabólitos sanguíneos não foram influenciadas pela silagem de resíduo de uva. Apesar de haver diminuição do teor de energia com a inclusão do alimento, a produção de leite foi igual em todos os tratamentos, assim como a concentração dos componentes gordura, proteína, lactose e sólidos totais, com exceção no nitrogênio ureico que foi deprimido. A composição de ácidos graxos não foi alterada com os níveis da silagem de resíduo de uva e esta aumentou a atividade antioxidante do leite.