

Juliana Roemers Moacyr

Efeito do manejo agroecológico e convencional sobre a qualidade do leite produzido no oeste de Santa Catarina, com ênfase na determinação do perfil de compostos químicos benéficos à saúde humana

Dissertação submetida ao Programa de Agroecossistemas da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de mestre em Agroecossistemas
Orientador: Prof. Dra. Shirley Kuhnen

Florianópolis
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Roemers Moacyr, Juliana

Efeito do manejo agroecológico e convencional sobre a qualidade do leite produzido no oeste de Santa Catarina, com ênfase à determinação do perfil de compostos químicos benéficos à saúde humana / Juliana Roemers Moacyr ; orientadora, Shirley Kuhnen - Florianópolis, SC, 2013. 98 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas.

Inclui referências

1. Agroecossistemas. 2. leite agroecológico. 3. pecuária sustentável. 4. ácido linoleico conjugado. 5. antioxidantes. I. Kuhnen, Shirley. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas. III. Título.

Juliana Roemers Moacyr

**EFEITO DO MANEJO AGROECOLÓGICO E CONVENCIONAL
SOBRE A QUALIDADE DO LEITE PRODUZIDO NO OESTE DE
SANTA CATARINA, COM ÊNFASE À DETERMINAÇÃO DO
PERFIL DE COMPOSTOS QUÍMICOS BENÉFICOS À SAÚDE
HUMANA**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Agroecossistemas

Florianópolis, 12 de abril de 2013.

Prof. Ademir Antonio Cazela, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof.^a Shirley Kuhnen, Dr.^a
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Marcelo Maraschin, Ph.D
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. ^a Daniele Cristina da Silva Kasama, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Edna Regina Amante, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina

À minha família

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

À minha família, sempre me incentivando pelo apoio afetivo, psicológico e material ao longo desta jornada. Pelos exemplos e valores compartilhados com muito amor e carinho. Muito obrigado Mônica Roemers Moacyr e Ivonzir Moacyr e aos meus irmãos Patrícia e Guilherme.

Ao meu namorado Lucas, pelo amor, amizade, apoio, compreensão, companheirismo, entusiasmo e por todos os momentos maravilhosos que compartilhamos juntos.

A todos os membros do Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal (LMBV), Laboratório de Frutas e Hortaliças (LFH), Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDVG), Laboratório de Fitopatologia (LF), pela possibilidade de aprendizado, pelo amplo conhecimento ofertado e pelo empréstimo de inúmeros equipamentos e materiais, sempre que preciso.

À Professora Dr^a Shirley Kuhnen pela confiança, competência, orientação, amizade e conhecimentos. E também, pela compreensão e paciência durante todo o processo de mestrado.

Ao Professor Marcelo Maraschin, pelos ensinamentos e pelas oportunidades criadas dentro do LMBV.

Aos colegas de Iniciação Científicas - ICs, pelo auxílio e contribuições nas análises e por dividir a rotina laboratorial.

À Dr^a Lucina Honorato, pela importantíssima contribuição quanto à parte estatística.

Aos meus amigos, que me acompanharam nessa jornada, estudando, projetando e também confraternizando.

Ao amigo Rudinei Stibuski pelo apoio durante a etapa de campo.

À todos amigos e colegas do LMBV, que de alguma forma contribuíram durante o mestrado, obrigado pelos momentos de reflexão, alegria e descontração.

Um agradecimento especial à todos os agricultores e agricultoras que participaram da pesquisa pela sua disponibilidade em participar do trabalho de forma tão significativa e por terem sempre nos recebido de portas abertas.

Ao CNPq pelo financiamento da pesquisa através do Projeto Rede Interinstitucional da Cadeia Produtiva do Leite Agroecológico, nº 562908/2010-2, Edital 22/2010.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas pelas condições necessárias para o desenvolvimento do mestrado.

RESUMO

A pecuária sustentável tem crescido nos últimos anos como resultado da busca por um leite de melhor qualidade nutricional, livre de resíduos tóxicos e produzido em sistemas de menor impacto ambiental. Em Santa Catarina é evidente o crescente número de propriedades familiares que vem adotando o manejo agroecológico, produzindo também leite orgânico. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do manejo utilizado em unidades de produção familiares convencionais e agroecológicas, do oeste de SC, com ênfase na determinação do perfil de ácidos graxos bem como no conteúdo de carotenoides, compostos (poli)fenólicos totais e capacidade antioxidante total (CAT). As propriedades foram agrupadas em função de suas características em convencional (CON), convencional a pasto (CP) e agroecológicas, com certificação orgânica (ORG) (n=8/tratamento). O leite foi coletado em cada unidade de produção a partir da ordenha completa de 3 animais de fenótipos similares, com 4 a 6 meses de lactação, ao longo das estações do ano (duas amostragens/estação). Amostras de concentrado, silagem e pastagens consumidas foram coletadas para determinação do conteúdo de carotenoides, (poli)fenóis totais e CAT. Os resultados mostraram que o leite agroecológico possui um perfil lipídico distinto do convencional, por conter teores superiores de ácido linoleico conjugado (CLA) (p=0,013) e de seu precursor, o ácido vacênico (AV) (p=0,012). A razão n-6/n-3 não diferiu entre os tratamentos, mas apresentou valores superiores no outono em relação às demais estações. Para os carotenoides, β -caroteno, luteína e zeaxantina também não foram encontradas diferenças entre os tratamentos. Em relação aos carotenoides totais das pastagens (p<0,001), teores similares foram encontrados no outono e no verão para todos os tratamentos, porém superiores na primavera no sistema ORG comparado aos demais. Detectou-se uma correlação negativa apenas entre os teores de carotenoides totais do pasto e luteína do leite (-0,23; p=0,02). O leite produzido nas unidades CON diferiu do agroecológico por conter teores superiores de compostos (poli)fenólicos no outono e verão. Já os sistemas a base de pasto (CP e ORG) apresentaram maior CAT no outono e primavera. Não foi encontrada correlação significativa entre o conteúdo de (poli)fenóis no pasto e leite. No entanto, a correlação positiva entre a CAT do pasto e a do soro (0,271; p<0,007) e entre o teor de (poli)fenóis totais do pasto e a CAT do extrato semi-purificado do leite (0,344; p<0,05) evidenciam o potencial da dieta à produção de um leite com alto teor de antioxidantes.

A análise das varreduras UV-visível dos extratos semi-purificados do leite via análise dos componentes principais mostrou haver diferenças na composição de (poli)fenóis entre os tratamentos para as amostras de inverno e verão. A mesma análise dos extratos das pastagens revelou agrupamento similar aos encontrados para o leite. Em conjunto, os resultados mostraram o efeito positivo do manejo agroecológico sobre os teores de CLA e AV no leite e o emprego dos (poli)fenóis e carotenoides como marcadores da produção a pasto, independentemente do uso de suplementos. Os resultados obtidos podem futuramente auxiliar em uma possível indicação geográfica do leite produzido na região oeste de SC.

Palavras-Chave: Leite agroecológico, Pecuária sustentável, Ácido linoleico conjugado, β -caroteno, (poli)fenóis, capacidade antioxidante total.

ABSTRACT

Over the last few years sustainable livestock increased as a result of the search for a better nutritional milk quality free of toxic and produced in systems with less environmental impact. In Santa Catarina the number of family farms that adopts agroecological management combined with the production of organic milk is growing. The present study aims to evaluate the effect of conventional family management and the effect of agro ecological management in production units in the west of SC, with emphasis on the determination of fatty acid profiles, the carotenoids content, total polyphenolic compounds and total antioxidant capacity (CAT). The properties were grouped according to their characteristics in conventional (CON), conventional pasture (CP) and agro ecological with organic certification (ORG) (n=8/treatment). The milk was collected in each production unit from the complete milking of 3 animals of similar phenotypes, with 4 to 6 months of lactation, throughout the seasons (two samples/season). Samples of concentrate, silage and pasture consumed were collected to determine the total content of carotenoids, polyphenols and CAT. The results have demonstrated that agroecological milk has a different lipid profile than conventional milk due to its higher levels of conjugated linolenic acid (CLA) ($p=0.013$) and Vaccenic acid (AV) ($p=0.012$). The rate n-6/n-3 did not differ between treatments, however it showed higher values during the autumn compared to other seasons. Also no differences were found between treatments for carotenoids β -carotene, lutein and zeaxanthin. Regarding total carotenoids levels in pasture ($p<0.001$), similar levels were found in autumn and summer, for all treatments, however the levels in the ORG system are higher during the spring season compared to others. A negative correlation was detected only between the total levels of carotenoids in pasture and milk lutein (-0.23 ; $p=0.02$). The milk produced in CON units differed from agroecological ones for having higher polyphenolic compounds levels in autumn and summer. Pasture based systems (CP and ORG) presented higher values of CAT in autumn and spring. No significant correlation was found between the content of polyphenols in

the pasture and milk produced. However, a positive correlation between the CAT from pasture and serum (0.271, $p < 0.007$) and between (polyphenolic compounds levels and semi-purified extract of milk (0.344, $p < 0.05$) evidence the potential benefit of the diet to produce milk with a high content of antioxidants. The analysis by visible-UV scanning in semi-purified extracts of milk through main components analysis showed differences in the composition of polyphenols between treatments for samples of winter and summer. The same analysis of the extracts revealed similar grouping of pasture to those founded in milk samples. Taken together, the results showed the positive effect of agroecological management on the levels of CLA, AV in milk, and the employment of polyphenolic compounds and carotenoids as markers of pasture production, regardless of use of the supplements. The results obtained could help in the future for a possible geographical indication of the milk produced in the western region of SC.

Keywords: Agroecological Milk, Sustainable Livestock, Conjugated Linoleic Acid, β -Carotene, Polyphenols, Total Antioxidant Capacity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação da síntese ruminal do C18:2 cis-9, trans-11 (ácido rumênico) através da biohidrogenação realizada por ação bacteriana no rúmen de vacas leiteiras e da síntese endógena na glândula mamária, catalisada pela enzima delta-9-dessaturase. Fonte: Adaptado de Baumam.(2003).....11

CAPITULO 1 – Caracterização do perfil de ácidos graxos, carotenoides e vitamina A do leite produzido em unidades de produção agroecológicas e convencionais do oeste de Santa Catarina

Figura 1. Mapa com a localização dos 2 municípios em estudos, São Domingos e Novo Horizonte, localizados da região oeste de Santa Catarina.....38

Figura 2. Diferenças sazonais encontradas para os principais ácidos graxos do leite coletado na UFLs no oeste de Santa Catarina.....47

Figura 3. Conteúdo de carotenóides das Espécies de pastagens consumidas nos sistemas CON, CP e ORG, durante as quatro estações do ano. ^{a-d} valores com letras distintas sobrescritas indicam diferenças significativas ($p < 0,001$). Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da mesma estação. Letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos ao longo das estações.....51

Figura 4. Variação sazonal na concentração média de carotenoides na ração e silagem nas ULPs analisadas.....52

Figura 5. Diferenças sazonais encontradas nas xantofilas luteína e zeaxantina e vitamina A no leite coletado na UFLs no oeste de Santa Catarina.....55

CAPITULO 2 – Comparação do perfil polifenólico e capacidade antioxidante total do leite agroecológico com o convencional produzido no oeste de Santa Catarina, ao longo das estações do ano

Figura 1. Conteúdos de compostos polifenólicos totais nas amostras de pasto consumido nas UFLs CON, CP e ORG. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da mesma estação.

Letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos ao longo das estações (média \pm erro padrão).....74

Figura 2- Capacidade antioxidante total dos extratos EtOH/H₂O, determinado pelos ensaios FRAP e DPPH, das amostras de pasto consumido por vacas em lactação criadas nos sistemas CON, CP e ORG. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da mesma estação. Letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos ao longo das estações. (Média \pm erro padrão).....76

Figura 3- Conteúdos de (poli)fenóis totais no extrato semi-purificado do leite produzido pelos sistemas CON, CP e ORG em propriedades familiares do oeste de Santa Catarina. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da mesma estação. Letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos ao longo das estações. (Média \pm erro padrão).....78

Figura 4. Capacidade antioxidante total do soro do leite produzido nas UFLs CON, CP e ORG. (Média \pm erro padrão).....80

Figura 5. Capacidade antioxidante total dos extratos semi-purificados ricos em (poli)fenóis, produzido pelos tratamentos CON, CP e ORG. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da mesma estação. Letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos ao longo das estações. (Média \pm erro padrão)...81

Figura 6 – Perfil espectral de varredura (UV-visível) de 200 – 700 nm do ERP do leite de verão (A) e inverno (B) e do extrato hidroalcólico do pasto de verão (C) e inverno (D), sob manejo CON e ORG.....83

Figura 7. Distribuição fatorial de PC1 e PC2 dos dados espectrais UV-visível dos extratos polifenólicos dos leites (A) e extrato bruto do pasto (B), encontrados sob o manejo CON, TRA e ORG no inverno.....84

Figura 8. Análise dos componentes Principais (PCA), dos perfis espectrais da varredura espectrofotométrica do ERP do leite (A) (200 a 700 nm) e extrato hidroalcólico do pasto (B) (200 a 350 nm) de amostras coletadas no inverno.....85

Figura 9. Distribuição fatorial de PC1 e PC2 dos dados espectrais UV-

visível dos extratos polifenólicos dos leites (A) e extrato bruto do pasto (B), encontrados sob o manejo CON, TRA e ORG no verão87

Figura 10. Análise dos componentes Principais (PCA), dos perfis espectrais da varredura espectrofotométrica do ERP do leite (A) (200 a 700 nm) e extrato hidroalcolólico do pasto (B) (200 a 350 nm) de amostras coletadas no verão.....88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação dos compostos polifenólicos.....19

CAPITULO 1 - Caracterização do perfil de ácidos graxos, carotenoides e vitamina A do leite produzido em unidades de produção agroecológicas e convencionais do oeste de Santa Catarina

Tabela1. Características dos sistemas de produção convencional (CON), convencional a pasto (CP) e orgânico (ORG) utilizados em unidades familiares de leite dos municípios de São Domingos e Novo Horizonte (oeste de Santa Catarina).....42

Tabela 2. Composição de ácidos graxos e compostos antioxidantes lipossolúveis encontrada nas amostras de leite dos sistemas convencional – CON, convencional a base de pasto–CP e Orgânico-ORG produzido no oeste catarinense.....43

Tabela 3. Espécies das pastagens consumidas nos sistemas: convencional – CON, convencional a base de pasto–CP e Orgânico-ORG, durante as quatro estações do ano.....45

CAPITULO 2 – Comparação do perfil polifenólico e capacidade antioxidante total do leite agroecológico com o convencional produzido no oeste de Santa Catarina, ao longo das estações do ano

Tabela1. Caracterização das unidades de produção familiares de leite nos municípios de São Domingos e Novo Horizonte (oeste de Santa Catarina), agrupadas conforme o manejo utilizado em convencionais (CON), convencional a pasto (CP) e orgânicas (ORG).....65

Tabela 2. Composição das espécies forrageiras consumidas nas UFLs de manejo convencional (CON e CP) e agroecológicas (ORG) nas diferentes estações do ano.....71

Tabela 3. Coeficientes de correlação de Pearson entre os parâmetros analisados em leite e pasto de UFLs do oeste Catarinense.....76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA - Ácido araquidônico	EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa em Agropecuária
ADH- Ácido docosahexaenóico	EPAGRI - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
ADP - Ácido docosapentaenóico	ERP – Extrato Rico em Polifenóis
AEP - Ácido eicosapentaenoico	FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations
AG – Ácido graxo	FRAP - <i>Ferric reducing ability of plasma</i>
AGMI – Ácido graxo mono-insaturado	IFOAM - <i>International Federation of Organic Agriculture Movements</i>
AGPI – Ácido graxo poli-insaturado	IGP - Indicação geográfica protegida
AGS – Ácido graxo saturado	KOH – Hidróxido de Potássio
AL – Ácido linoleico	MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
ALA – Ácido linolênico	MS – Massa seca
AR – Ácido rumênico	ORG - Orgânico
AV – Ácido vacênico	PCA - Análise de componentes principais
BHT - Hidroxitolueno butilado	RT - Renda total
CAT – Capacidade antioxidante total	TMR - Total mixed ration
CLA – Ácido linoleico conjugado	UFL - Unidade familiares de leite
CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência	UV - Ultra-violeta
CON – Convencional	
CP – Convencional a pasto	
DOC - Denominação de origem controlada	
DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil	
EAG – Equivalente em ácido gálico	

Sumário

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIORÁFICA	2
2.1 PRODUÇÃO AGROECOLÓGICA	2
2.2 AGRICULTURA FAMILIAR NA BOVINOCULTURA DE LEITE.....	4
2.3 CERTIFICAÇÃO ORGÂNICA	6
2.4 QUALIDADE DO LEITE.....	8
2.5 ÁCIDOS GRAXOS	9
2.6 ANTIOXIDANTES	13
2.7 PIGMENTOS CAROTENOÍDICOS E VITAMINA A	15
2.8 COMPOSTOS POLIFENÓLICOS	19
3. OBJETIVOS	21
3.1 OBJETIVO GERAL.....	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
REFERÊNCIAS	22
CAPÍTULO 1 – Caracterização do perfil de ácidos graxos, carotenoides e vitamina A do leite produzido em unidades de produção agroecológicas e convencionais do oeste de Santa Catarina	
1. INTRODUÇÃO	35
2. METODOLOGIA	37
2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	37
2.2 EXTRAÇÃO, METILAÇÃO E ANÁLISE DE ÁCIDOS GRAXOS NO LEITE	38
2.3 EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS CAROTENOIDES TOTAIS E VITAMINA A NO LEITE .	39
2.4 EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CAROTENOIDES TOTAIS DA DIETA	40
2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
3.1 PERFIL LIPÍDICO	42
3.2 CAROTENOIDES E VITAMINA A	48
4. CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS	54
CAPÍTULO 2 – Comparação do perfil polifenólico e capacidade antioxidante total do leite agroecológico com o convencional produzido no oeste de Santa Catarina, ao longo das estações do ano	
1. INTRODUÇÃO	62
2. METODOLOGIA	65

2.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	65
2.2	COLETAS	66
2.3	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS	67
2.4	QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS POLIFENÓLICOS TOTAIS	68
2.5	DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL	68
2.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	69
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	70
3.1	ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO BOTÂNICA	70
3.2	DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE COMPOSTOS POLIFENÓLICOS NOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DAS PASTAGENS	72
3.3	DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (CAT) DOS EXTRATOS HIDROALCÓLICOS DAS PASTAGENS	74
3.4	DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE COMPOSTOS POLIFENÓLICOS TOTAIS NOS EXTRATOS SEMI- PURIFICADOS DO LEITE	77
3.5	CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (CAT) DO SORO E DO EXTRATO SEMI-PURIFICADO DO LEITE	79
3.6	COMPARAÇÃO DOS PERFIS ESPECTRAIS UV-VISÍVEL DOS EXTRATOS SEMI-PURIFICADOS DO LEITE E HIDROALCÓLICOS DAS PASTAGENS VIA ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)	82
4	CONCLUSÃO.....	89
	REFERÊNCIAS.....	90
	CONCLUSÕES FINAIS.....	96
	PERSPECTIVAS.....	96
	APÊNDICE A.....	97

1. INTRODUÇÃO

A produção leiteira no Brasil é uma importante atividade econômica, sendo o país o terceiro maior produtor de leite do mundo e o maior da América do Sul (USDA, 2011). Em Santa Catarina, a produção leiteira é de significativa importância, especialmente pela existência de um grande número de propriedades familiares nesta atividade. A região que apresenta taxas de crescimento da produção em torno de 72,6% (EPAGRI, 2008), caracteriza-se como um campo estratégico para estudos comparativos sobre a qualidade do leite, devido a existência de sistemas de produção que vão do convencional ao agroecológico.

Além de conter nutrientes necessários ao crescimento e manutenção do corpo do animal, o leite é reconhecido por conter alguns constituintes químicos que desempenham efeitos benéficos à saúde humana, tais como os ácidos graxos linoleico conjugado (CLA), n-3, n-6, além de compostos antioxidantes como os pigmentos carotenóides, vitaminas lipossolúveis A e E, compostos polifenólicos, entre outros (BERGAMO et al., 2003; KHANAL et al., 2008; SLOTS et al., 2009).

No Brasil são raros os estudos que associam o manejo utilizado em um sistema de produção com a qualidade do leite, principalmente, visando a determinação do perfil de compostos químicos benéficos à saúde humana. Neste sentido, considerando todos os aspectos relacionados à produção de leite agroecológico, espera-se dos mesmos uma composição química diferenciada quando comparado aquele produzido pelo sistema de produção convencional.

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo comparar o perfil de ácidos graxos, bem como o conteúdo de carotenoides, compostos polifenólicos e a capacidade antioxidante total do leite produzido em unidades familiares do oeste de Santa Catarina de manejo agroecológico com o convencional, durante as quatro estações do ano. Como perspectiva, os resultados encontrados poderão apontar o potencial da dieta como ferramenta para autenticação de um leite de melhor qualidade, visando determinar possíveis marcadores químicos que poderiam justificar a indicação geográfica do produto.

O trabalho inicia com uma breve revisão na literatura sobre produção agroecológica e o papel da agricultura familiar na bovinocultura leiteira, principalmente na região oeste catarinense, destacando-se também o papel das certificadoras naquela região. Mais adiante, a revisão avança sobre a qualidade do leite e alguns dos seus constituintes de interesse, tais como os ácidos graxos, em particular o CLA, carotenoi-

des, vitamina A e compostos polifenólicos e finaliza com os capítulos 1 e 2, onde são apresentados os principais resultados do trabalho de campo e laboratório.

2. REVISÃO BIBLIORÁFICA

2.1 PRODUÇÃO AGROECOLÓGICA

O interesse por alimentos saudáveis, livres de resíduos tóxicos, produzidos com menor impacto ambiental tem aumentado nas últimas décadas (FAO, 2012). Isto porque o consumo de alimentos produzidos à base de agrotóxicos, antibióticos, hormônios e metais pesados, têm sido a conduta da agronomia nos últimos 150 anos. A essa problemática, tem-se atribuído o aumento expressivo de doenças degenerativas, como doenças cardíacas, alguns tipos de câncer, diabetes, reumatismo, arterosclerose, entre outros (WHO, 2003). Diante disso, a agricultura agroecológica, bem como, alimentos provenientes da agricultura orgânica, se destacam como alternativa ao fornecimento de uma alimentação mais adequada, tanto nutricional, quanto ambientalmente (BERGAMO et al., 2003; BUTLER et al., 2008). De acordo com o *International Federation of Organic Agriculture Movements* (IFOAM) existem hoje cerca de 35 milhões de ha de produção orgânica certificada, distribuídos em 154 países. Em 2008, o comércio mundial de alimentos orgânicos movimentou US\$ 51 bilhões, estimando-se aumentos anuais na ordem de 10 a 15% (EUROPEAN COMMISSION, 2010). A Austrália possui a maior área, com 12 milhões, seguida da Argentina com 4 milhões, China com 1,85 milhões, EUA com 1,82 milhões e o Brasil com 1,77 milhões de ha. Segundo o Ministério da Agricultura, Abastecimento e Pecuária (MAPA), o Brasil produz atualmente produtos orgânicos como soja, açúcar, chá, cacau, laranja, banana, abacaxi, café, mel, leite, carne, frango, palmito, hortaliças, castanha, entre outros, sendo 85% desta produção exportada e apenas 15% distribuída no mercado interno (CHAN, 2010).

A produção de leite orgânico no Brasil, embora ainda incipiente, se destaca com um crescimento de 10% ao ano (EMBRAPA, 2012). No entanto, assim como em outros setores da agricultura, a pecuária também foi impactada com a falta de incentivo comercial e logístico, bem como fatores como desaparecimento de conhecimentos tradicionais e diminuição da diversidade genética, relacionados ao modelo agrícola imposto pela “Revolução Verde” que passou a dominar o pensamento científico-agronômico no início do século passado. Nos anos 70, susten-

tou-se a ideia de modernização da agricultura baseada na mecanização, na utilização de variedades selecionadas e de insumos químicos. A partir dos anos 80, o processo de modernização aprofundou a integração da agricultura com os capitais industriais, comerciais e financeiros, formando o que foi chamado de complexos agroindustriais. Essa integração vertical¹ de pequenas propriedades, que passam a funcionar sob o controle centralizado das agroindústrias é o maior exemplo do capitalismo na agricultura (ABRAMOVAY, 2007). Foi neste cenário, que observou-se no Brasil, a importação de novas tecnologias impostas por este novo modelo agrícola, baseadas principalmente no monocultivo, em insumos externos e combustíveis fósseis causado pela tecnificação dos sistemas de produção, resultando mesmo que ainda de forma enganosa, na produção imediata. No entanto, não imediatas foram as consequências danosas à economia do produtor, tornando-os altamente dependentes de insumos e equipamentos produzidos pelas multinacionais, causando o seu endividamento. Danosas também foram as consequências sobre a saúde do ambiente, com o efeito deletério na estrutura e na vida do solo e a diminuição da biodiversidade funcional dos agroecossistemas (ROSSET, 2002) e a tranquilidade da sociedade, devido ao uso maciço de agroquímicos utilizados para a produção de alimentos, para atender a forte demanda do mercado capitalista (MACHADO FILHO, 2007).

Neste contexto, a agroecologia surge como contraponto ao modelo agrícola vigente, tendo como alicerce os princípios ecológicos básicos para desenhar e administrar os agroecossistemas, buscando a sinergia entre os processos ecossistêmicos, tais como a ativação da biologia do solo, a reciclagem de nutrientes e o melhoramento de antagonistas benéficos. Nessa abordagem, o que importa, não é focar em tecnologias específicas, e sim em uma gama de tecnologias interativas (ROSSET, 2002).

Embora a Associação Brasileira de Agroecologia trate distintamente produção agroecológica e orgânica, a Legislação Brasileira não faz essa distinção. De acordo com a Lei Federal Nº 10.831 que dispõe sobre agricultura orgânica:

Art. 1º §2 O conceito de sistema orgânico de produção agropecuária e industrial abrange os denominados: ecológico, biodinâmico, natural, regene-

¹Integração vertical: consiste na execução de várias funções da cadeia operacional de um negócio sob a égide de uma só empresa.

rativo, biológico, agroecológicos, permacultura e outros que atendam os princípios estabelecidos por esta Lei (BRASIL, 2003).

Sendo assim, pode-se dizer que agroecologia é uma nova abordagem que integra conhecimentos científicos, teóricos, práticos e metodológicos (agronômicos, veterinários, zootécnicos, ecológicos, sociais, econômicos, antropológicos e afins) aos conhecimentos populares para a compreensão, avaliação e implementação de sistemas agrícolas, visando a sustentabilidade do sistema (ALTIERI, 2004).

De acordo com os princípios da agroecologia, a atividade animal deve estar, tanto quanto possível, integrada à produção vegetal, visando à menor dependência de insumos externos, tais como rações e volumosos, amplamente utilizados nos sistemas convencionais de produção. A otimização do uso dos recursos naturais e sócio-econômicos disponíveis no agroecossistema e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais estão entre os fundamentos da produção agroecológica. Esses têm como objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica do processo, a maximização dos benefícios sociais e a minimização da dependência de energia não renovável (ANA, 2012).

As tecnologias empregadas pela agroecologia, tanto quanto pela agricultura orgânica em função de particularidades como tamanho, diversidade de produção e menor utilização de insumos são apropriadas à agricultura familiar (ABRAMOVAY, 2000).

2.2 AGRICULTURA FAMILIAR NA BOVINOCULTURA DE LEITE

A agricultura familiar reúne aspectos importantes tais como a família, o trabalho, a produção e as tradições culturais. Segundo Chayanov (1974), unidades de produção familiar são regidas por certos princípios gerais de funcionamento interno, diferentemente da produção capitalista, sendo que a família emprega sua força de trabalho no cultivo da terra e recebe como resultado, certa quantidade de bens.

As estatísticas mais recentes demonstram que o País conta com 4,8 milhões de estabelecimentos rurais, sendo 85,2% do total de estabelecimentos rurais brasileiros representados por agricultores familiares, ocupando aproximadamente 30,5% da área total cultivada. São responsáveis por 37,9% do valor bruto da produção agropecuária nacional e geram cerca de 14 milhões de empregos no meio rural. Quando considerado o valor da renda total agropecuária (RT) de todo o Brasil, os esta-

belecimentos familiares respondem por 50,9% do total de R\$ 22 bilhões (SOBER, 2005). Esse conjunto de informações revela que os agricultores familiares utilizam os recursos produtivos de forma mais eficiente que os patronais, pois, mesmo detendo menor proporção da terra e do financiamento disponível, produzem e empregam mais do que os patronais.

No Brasil, a produção leiteira se constitui em uma importante atividade econômica e social, sendo o país o terceiro maior produtor de leite do mundo e o maior produtor da América do Sul (EMBRAPA, 2012). Segundo SOBER (2005), 36% dos estabelecimentos rurais familiares têm a pecuária leiteira como um dos seus principais aportes financeiros. Em Santa Catarina, a produção de leite é de significativa importância, sendo o estado o quinto maior produtor de leite do Brasil (EMBRAPA, 2012), e essa produção leiteira advém fundamentalmente das pequenas propriedades rurais de agricultores familiares (SANTOS et al., 2006). Muitas dessas famílias vêm buscando formas alternativas de produção, visando a diminuição de custos e o aumento da produtividade.

A transição para sistemas a pasto, ocorrida mais recentemente, permitiu a diminuição de custos e o desenvolvimento econômico e social de agricultores familiares catarinenses, viabilizando a produção nessas unidades e permitindo aos agricultores a continuidade na atividade (MACHADO FILHO, 2007). No entanto, o sucesso da exploração de um ecossistema pastoril, somente será obtido através do conhecimento dos fatores ecológicos envolvidos direta e indiretamente no manejo (ERPEN, 2004), como a procura de uma composição botânica de espécies fisiologicamente adaptadas às condições climáticas de cada região e estação do ano, o conhecimento fenológico das pastagens utilizadas e o estabelecimento de um ponto ótimo de corte², bem como características bioquímicas que possam proporcionar ao animal, alto fornecimento de energia e constituintes bioativos. Dessa forma, é de se esperar que a produção a pasto terá implicações positivas sobre as características do leite, podendo também agregar valor ao produto.

Em um sistema de produção a pasto, deve-se promover o manejo das pastagens baseada na intervenção antrópica, nos processos da vida animal, das pastagens e do ambiente. Para obter-se sucesso neste sistema de produção deve-se seguir um sistema de prioridades baseado na

² Ponto ótimo de corte: É a idade ideal em que a pastagem encontra-se em seu melhor estágio nutricional para ser biodisponibilizada ao gado. Isso depende tanto da fenologia da pastagem, quanto das condições climática local (PINHEIRO MACHADO, 2010).

sanidade e alimentação, tendo como finalidade maximizar a captação da energia solar, respeitando o bem-estar animal e buscando sempre a maior eficiência produtiva. Quanto maior a captura de energia solar, maior a incorporação de insumos e maior a produção (PINHEIRO MACHADO, 2010). Neste tipo de sistema há 4 leis universais descritas por Voisin (1979), que permite ao produtor obter máximos rendimentos técnicos e econômicos, sem agressão ao meio ambiente e com um balanço ambiental positivo com o elevado nível de sequestro de CO₂:

- 1ª Lei do repouso: entre um pastoreio e outro é necessário tempo suficiente que permita ao pasto armazenar nas suas raízes reservas necessárias para um rebrote vigoroso e realizar grande produção de pasto por dia e por hectare, sendo este dependente da espécie vegetal, estação do ano, condições climáticas, fertilidade do solo e demais fatores ambientais.

- 2ª Lei da ocupação: o tempo global de ocupação de uma parcela deve ser suficientemente curto para que o pasto cortado a dente no início do pastoreio, não seja cortado novamente pelo dente dos animais, antes que deixem a parcela.

- 3ª Lei do rendimento máximo: para que os rendimentos sejam máximos, é necessário ajudar os animais de exigência mais elevada para que possam colher a maior quantidade de pasto e que este seja de melhor qualidade possível.

- 4ª Lei do rendimento regular: para que uma vaca possa dar rendimentos regulares é preciso que não permaneça por mais de três dias em uma mesma parcela.

Especificamente, a região sul do Brasil está situada em coordenadas privilegiadas, permitindo a utilização tanto de pastagens tropicais, subtropicais, bem como de espécies temperadas, o que facilita a adoção de sistemas de produção animal a base de pasto praticamente durante o ano inteiro. Neste sentido, um sistema de produção a base de pasto, que respeita as limitações ambientais, caracteriza-se como uma atividade de base ecológica (MACHADO FILHO, 2007). Tanto é assim que muitos agricultores da região possuem ou estão em vias de recebimento do selo orgânico para a produção de leite.

2.3 CERTIFICAÇÃO ORGÂNICA

A certificação de produtos teve origem na França no início do século XX, por exigências do mercado e por imposição governamental (BLANC; KLEDAL, 2012), com o estabelecimento de critérios tais

como observações, registros, análises e pareceres para certificação de produtos, processos ou serviços que possuam algum diferencial, como marcas de conformidades, a exemplo da Denominação de origem controlada (DOC), Indicação geográfica protegida (IGP), Produtos orgânicos, etc.

No Brasil, a discussão sobre a certificação orgânica teve início em 1994, resultando na publicação da IN 007, do Ministério da Agricultura e Pecuária (Brasil, 1999):

Considera-se sistema orgânico de produção agropecuária e industrial, todo aquele em que se adotam tecnologias que otimizem o uso de recursos naturais e sócio-econômicos, respeitando a integridade cultural e tendo por objetivo a auto-sustentação no tempo e no espaço, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energias não renováveis e a eliminação do emprego de agrotóxicos e outros insumos artificiais tóxicos, organismos geneticamente modificados OGM/transgênicos ou radiações ionizantes em qualquer fase do processo de produção, armazenamento e de consumo, e entre os mesmos, privilegiando a preservação da saúde ambiental e humana.

No que se refere a produção animal, ainda segundo a IN 007/99, espera-se a maximização da captação e uso de energia solar; auto-suficiência alimentar orgânica; diminuição da dependência de recursos externos no processo produtivo; associação de espécies vegetais e animais; criação a campo; abrigos naturais com árvores; quebra-ventos; conservação das pastagens com silagem ou fenação (desde que de origem orgânica); mineralização com sal marinho; suplementos vitamínicos a base de óleo de fígado de peixe e levedura; homeopatia, fitoterapia e acupuntura. Tal Normativa também dispõe sobre as atribuições das certificadoras: *“as certificadoras adotarão o processo de certificação mais adequado às características da região onde atuam, desde que sejam observadas as exigências legais”*. Entretanto alguns procedimentos convencionais podem ser permitidos, desde que sob controle da certificadora, como: aquisição de alimentos não certificados orgânicos equivalente a até 15% do total da matéria seca de alimentos para animais ruminantes; aditivos, óleos essenciais, suplementos vitamínicos e sais minerais; suplementos de aminoácidos; amochamento e castração e inseminação artificial. No entanto, a utilização de organismos geneticamente modificados - OGMs, muito comuns em espécies de pastagens,

como milho ou soja, não são permitidos nestes sistemas de produção, em nenhuma extensão (BRASIL, 2003).

Na região Sul do Brasil, desde 1998, a Rede de Agroecologia Ecovida, formada por associações, cooperativas e grupos informais de agricultores familiares, é um sistema regional de garantia de escala participativa (BLANC; KLEDAL, 2012). A rede envolve mais de 3.500 famílias que visam à produção e a comercialização de alimentos sem agroquímicos, sob princípios de respeito ao meio ambiente, de solidariedade, cooperação, resgate da cultura local, de valorização da pessoa e da vida. Os produtos ecológicos oriundos de propriedades certificadas, membros da Rede Ecovida recebem o selo de certificação e são comercializados em feiras, pequenos comércios e distribuidores, grupos de troca de alimento, Programas de Aquisição de Alimentos (PAA) e na alimentação escolar. Atualmente, a Rede Ecovida conta com 23 núcleos regionais, abrangendo em torno de 170 municípios. Seu trabalho congrega, aproximadamente, 200 grupos de agricultores, 20 ONGs e 10 cooperativas de consumidores. Em toda a área de atuação da Ecovida, são mais de 100 feiras livres ecológicas e outras formas de comercialização (ECOVIDA, 2012).

2.4 QUALIDADE DO LEITE

O leite é um alimento produzido a partir de uma complexa interação fisiológica que resulta na produção de um fluido constituído por nutrientes sintetizados a partir de precursores do metabolismo e da alimentação animal. É constituído por cerca de 87% de água, 9% de sólidos não gordurosos, sendo, 3,3% de proteína, 4,6% de lactose e 0,7% de cinzas e 4,0% de gordura (WALSTRA et al., 2006). O componente lipídico tem extrema importância por seu caráter energético. Segundo Fennema (1993), cerca de 97% dos lipídios do leite são formados por triacilgliceróis, os quais estão organizados em glóbulos de 2-3 µm de diâmetro rodeados por uma membrana derivada da membrana plasmática. No entanto, com o armazenamento, eventuais reações de lipólise podem aumentar a concentração de ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis. O leite ainda fornece uma variedade de nutrientes que não são energéticos, mas são essenciais para o organismo humano, tais como cálcio, fósforo, potássio, sódio, vitaminas e outros compostos como carotenoides e compostos polifenólicos (LINDMARK-MANSSON; AKESSON et al., 2000).

A qualidade do leite é um importante requisito para as indústrias e produtores do setor lácteo, sendo este parâmetro um fator determinante nos hábitos e costumes do consumidor na hora da escolha do produto e seus derivados. Neste contexto, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite (Instrução Normativa N^o 62 de 18/12/2011, MAPA) prevê que o leite produzido deve atender critérios de qualidade sanitária e microbiológica, como matéria gorda, acidez titulável, índice crioscópico máximo, proteínas, contagem padrão em placas (UFC/mL), contagem de células somáticas (CS/mL), pesquisa de resíduos de antibióticos, entre outros. Entretanto, embora não previstos na IN 62, o leite pode conter constituintes que desempenham efeitos benéficos à saúde, como vitaminas, compostos antioxidantes de origem vegetal como carotenoides e (poli)fenóis e alguns tipos de ácidos graxos (MARTIN et al., 2004; BUTLER et al., 2008; FANTI et al., 2008). Diversos são os fatores associados ao manejo que podem influenciar na qualidade do leite, tais como a alimentação e o potencial genético dos animais, além dos fatores relacionados à obtenção e armazenamento do leite recém-ordenhado (HARRIS; BACKMAN, 1988). Embora os trabalhos visando a comparação das características biológicas, tecnológicas e econômicas do leite produzido em sistemas convencional e orgânico não sejam numerosos, de maneira geral, tem-se observado que o leite orgânico apresenta maiores teores de proteínas, ácidos graxos linoleicos conjugados (CLA), sais minerais, vitamina C e fitonutrientes, tais como carotenoides, flavonoides e (poli)fenóis (HEATON, 2001; FELSOT; ROSEN, 2004; CARISVEYRAT et al., 2004; FANTI et al., 2008).

2.5 ÁCIDOS GRAXOS

Na maioria das dietas das nações ocidentais, mais de um quarto do total de calorias diárias são fornecidos por ácidos graxos, muitos dos quais vem sendo associados a uma variedade de doenças humanas (SIMOPOULOS, 2002). O consumo da gordura do leite, por exemplo, devido a seu alto conteúdo de ácidos graxos saturados, tem sido evitado pela população em geral (BERGAMO et al., 2003). Há nos dias de hoje, uma maior preocupação em se ter uma dieta de ácidos graxos específicos, contendo ácidos graxos insaturados, que têm sido reconhecidos como benéficos à saúde humana, tais como o ácido linoleico conjugado (CLA), ácido linolênico (n-3) e o ácido linoleico (n-6). Estes são reconhecidamente essenciais, devido a incapacidade do corpo humano de sintetizá-los, atuando na prevenção de diversas doenças crônicas, como

cardiovasculares, hipertensão e obesidade (WILLIAMS, 2000). Paralelamente, alguns ácidos graxos insaturados como o ácido vacênico (C18: 1, trans-11), n-3, n-6 e o CLA, também têm mostrado efeitos positivos na saúde de animais de laboratório, tais como prevenção de infecção da glândula mamária e tumores de pele (ELGERSMA et al., 2004; BANNI et al., 2001; TURPEINEN et al., 2002; MARTIN; VALEILLE, 2002).

As propriedades biológicas dos ácidos graxos são determinadas pela sua natureza química, especialmente pela presença ou ausência de ligações duplas, o número e a localização dessas ligações e sua configuração (*cis* ou *trans*). Enquanto o consumo de gorduras saturadas está associado com altos níveis de colesterol total plasmático, colesterol LDL e com o aumento no risco de doença cardíaca coronariana, as gorduras monoinsaturadas têm mostrado efeitos benéficos como a diminuição tanto do colesterol plasmático como do colesterol LDL (CHAMPE, 2006).

Dentre os componentes saudáveis da gordura láctea, destaca-se o CLA, sendo este um grupo de ácidos graxos predominantemente encontrado no leite e carne de ruminantes. O CLA é um termo para descrever uma mistura de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico (C18: 2), com ligações duplas conjugadas (PRANDINI et al., 2007). O teor de CLA na gordura do leite pode variar de 0,3 a 1,0%, sendo influenciado pelas estações do ano, a alimentação, o processamento do alimento e o estágio de lactação dos animais (JAHREIS et al., 1997; SEBÉDIO et al., 1999; PRANDINI et al., 2007). Um interesse crescente em melhorar o conteúdo de CLA em produtos alimentares surgiu recentemente devido a descoberta do seu potencial como anticancerígeno, antiaterogênico, antidiabético e antiobesidade (IP et al., 1999; PARIZA et al., 2001; RYDER et al., 2011). Nagao et al. (2003), por exemplo, demonstraram que o CLA diminui a pressão sanguínea em modelos de ratos propensos a desenvolver obesidade e diabetes, atuando portanto, positivamente sobre fatores de risco para doenças cardiovasculares. Estudos clínicos também apontaram para sua capacidade de redução da gordura corporal e aumento da massa muscular (PARIZA et al., 2001), além de atuarem como imunomoduladores, auxiliando em uma maior produção de imonoglobulinas (O'SHEA, 2004).

A produção de CLA em vacas leiteiras pode ocorrer por duas vias. A primeira ocorre a partir da formação de intermediários pela biohidrogenação incompleta de ácidos graxos poli-insaturados da dieta realizada por microrganismos anaeróbicos do rúmen, catalisada pela enzima *ácido-linoleico-isomerase* especialmente produzida pela bactéria *Butyri-*

vibrio fibrisolvens (KEPLER et al., 1966). A segunda via de formação do CLA se dá através da dessaturação de ácidos graxos monoinsaturados (GRINARI et al., 2000), pela ação da enzima Δ -9-*dessaturase* na glândula mamária sobre o ácido vacênico (BAUMGARD et al., 2000). O ácido vacênico, oriundo da biotransformação ruminal dos AL e ALA pode, assim, atuar como um precursor para o CLA na glândula mamária (SALMINEN et al., 1998). Desta forma, os fatores que determinam a quantidade de CLA, que está disponível para a absorção no trato gastrointestinal são o consumo alimentar de C18:2 e C18:3 bem como as condições do rúmen, que podem afetar o crescimento e a atividade dessas bactérias (DHIMAN et al., 1995; FRENCH et al., 2000). As etapas iniciais da biohidrogenação ruminal dos ácidos linoleico e linolênico e da ação da enzima Δ -9-*dessaturase* no tecido mamário estão demonstradas na Figura 1.

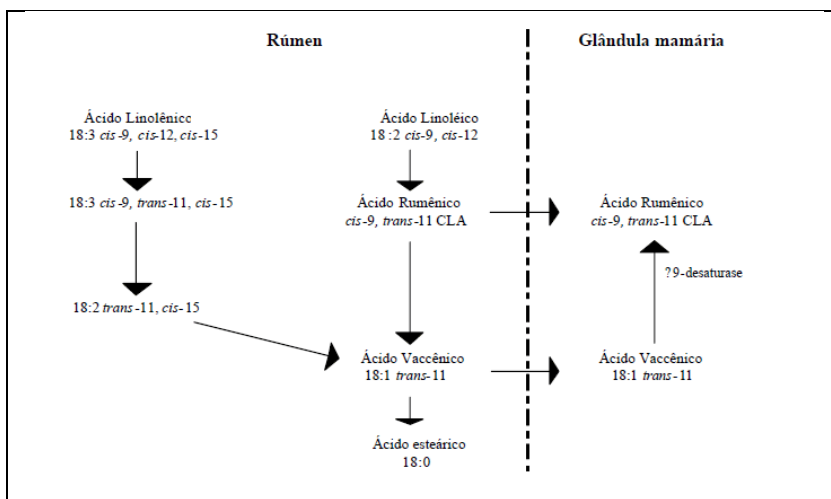


Figura 1. Representação da síntese ruminal do C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (ácido rumênico) através da biohidrogenação realizada por ação bacteriana no rúmen de vacas leiteiras e da síntese endógena na glândula mamária, catalisada pela enzima Δ -9-*dessaturase*. Fonte: Adaptado de Bauman et al. (2003).

Tanto o CLA quanto os ácidos graxos *trans*, surgem no estômago dos ruminantes como intermediários da hidrogenação de ácidos graxos insaturados durante a fermentação bacteriana. O perfil lipídico de leite contém o ácido vacênico *trans* (18:1 t11) como isômero *trans* predominante. Em contraste, os CLA's são formados em menor quantidade

(FRITSCHÉ; STEINHART, 1998). Entretanto, é sabido que animais alimentados a base de pastagens frescas possuem maiores teores de CLA no leite e carne do que aqueles que consomem-nas conservadas ou têm uma alimentação a base de concentrado (STANTON et al., 1997; KELLY et al., 1998; LAWLESS et al., 1998; DHIMAN, et al., 1999). Diversos estudos vêm sendo conduzidos visando aumentos dos teores de CLA na gordura do leite a partir do manejo nutricional, estando muitos deles relacionados à produção a base de pasto (KAY et al., 2004; SHINGFIELD et al., 2006; BUTLER et al., 2008). No Hemisfério Norte, vacas criadas a pasto mostraram um conteúdo superior de CLA e de antioxidantes ligados a gordura do leite, comparada àquela criada de forma convencional, alimentadas com *total mixed ration* (TMR) (BERGAMO et al., 2003; KHANAL et al., 2008; SLOTS et al., 2009).

Os ácidos graxos poli-insaturados AL e ALA, além de participarem da formação do CLA são também reconhecidos como essenciais a saúde do corpo humano. O AL e seu derivado ácido araquidônico (AA) pertencem a família n-6 e o ALA com seus derivados, o ácido eicosapentaenoico (AEP) e o ácido docosahexaenoico (ADH), ácido docosapentaenoico (ADP), pertencem a família n-3. Esses ácidos graxos e seus derivados são essenciais para o desenvolvimento e crescimento humano, principalmente para a fluidez das membranas celulares e para a síntese de eicosanoides, um grupo de hormônios intimamente envolvido em processos inflamatórios e homeostático do corpo que inclui as prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos, entre outros (CHAMPE, 2006). Além disso, desempenham um importante papel na prevenção e tratamento de diversas doenças como as coronárias, hipertensão, diabetes, artrite, câncer e inflamatórias (BHATNAGAR et al., 2003; HOOPER et al., 2004). Embora o consumo de gorduras contendo ácidos graxos poli-insaturados n-6 cause a diminuição dos níveis de colesterol plasmático quando substitui a gordura saturada, efeito similar é observado para os níveis das lipoproteínas HDLs, responsáveis pela proteção contra doenças coronarianas do coração. O consumo das gorduras poli-insaturadas n-3, têm sido associado a supressão de arritmias cardíacas, redução dos níveis de triacilgliceróis séricos, diminuição da tendência à trombose e redução substancial do risco de mortalidade por doenças cardiovasculares (HOOPER et al., 2006). Entretanto, este ácido graxo, em particular, apresenta mínimo efeito sobre os níveis das lipoproteínas LDL e HDL (CHAMPE, 2006).

De acordo com Martin e Vaille (2002), os ácidos graxos das famílias n-6 e n-3 competem pela mesma enzima envolvida nas reações

de dessaturação e alongamento de cadeia, a *Δ-6-desaturase*, resultando na forte influência sobre a taxa de produção de eicosanoides. Um excesso de ácido linoleico vai impedir a transformação do ácido α -linolênico em seus derivados AEP, ADH e ADP. O mesmo acontecerá no caso contrário, com um menor consumo do ácido linoleico, haverá uma diminuição da formação do ácido araquidônico. Porém, como a enzima tem maior especificidade pelos ácidos graxos ômega-3, precisará de quantidades menores deste ácido que de ômega-6 para produzir a mesma quantidade de derivados. Isto significa que deve existir uma proporção maior de ácido linoleico do que de ácido linolênico, na alimentação. Os metabólitos provenientes do ômega-6 são mediadores químicos potentes envolvidos na inflamação, infecção, lesão tecidual e agregação plaquetária. Os metabólitos provenientes do ômega-3 são precursores de mediadores químicos das prostaglandinas, que atuam no processo anti-inflamatório. Por esse motivo, considera-se que o n-3 tem um maior papel no mecanismo de defesa enquanto que o n-6 participa de forma mais efetiva do processo inflamatório (BRAGATO, 2009). Sendo assim, se faz necessária uma relação equilibrada no consumo entre ômega-6 e ômega-3.

Atualmente, a dieta ocidental tem significativas calorias oriundas de gorduras, sendo de 30 a 35% acima do recomendado. Especificamente, a dieta é caracterizada por uma elevada proporção de gorduras saturadas (> 10%), com elevado teor de n-6 e uma baixa proporção de n-3, resultando em uma relação n-6/n-3 nas proporções de 20-30:1 (CANDELA et al., 2011). No entanto, as razões de 2:1 a 3:1 (n-6/n-3) têm sido recomendadas por alguns autores (MASTERS, 1996; CANDELLA, et al., 2011) por possibilitar uma maior conversão do ácido α -linolênico em ADH. Desta forma, uma alteração nesta relação pode mudar o metabolismo do corpo e o estado inflamatório (HOOPER, et al., 2006). Adicionalmente, o conteúdo de gorduras insaturadas presentes no leite pode aumentar sua susceptibilidade oxidativa, tornando-os impróprio para o consumo. Desta forma, a fim de manter uma elevada qualidade lipídica, a concentração de antioxidantes deve, portanto, também ser elevada (SLOTS et al., 2009).

2.6 ANTIOXIDANTES

A atividade antioxidante de alguns compostos presentes nos alimentos tem despertado interesse de muitos pesquisadores pelo seu potencial efeito na prevenção do estresse oxidativo, causa primária de

muitas doenças crônicas por provocar dano e morte celular. O estresse oxidativo é resultado do desequilíbrio entre os radicais livres e o sistema de defesa antioxidante presente no organismo. A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos induz mecanismos de defesa antioxidante, no corpo, para impedir a indução de danos, principalmente aos lipídeos, proteínas e nucleotídeos (SIES, 1993).

Os radicais livres são moléculas orgânicas e inorgânicas ou ainda átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados na última camada (HALLIWELL, 1994). Portanto, esses são altamente energéticos e instáveis formados por ação direta de uma fonte externa de energia, passando a ter uma função oxidante ou redutora. A formação dos radicais livres é um processo contínuo e fisiológico ocorrido nas células vivas durante o metabolismo normal, como subprodutos da respiração e síntese de estruturas complexas. Contudo, muitos fatores externos podem contribuir para o aumento da produção desses radicais, como radiação ultravioleta, tabagismo e dieta alimentar deficiente (ARAÚJO, 2008). Esses radicais cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio são denominados espécies reativas de oxigênio (ERO) ou espécies reativas de nitrogênio (ERN). As principais ERO distribuem-se em dois grupos, os radicalares: hidroxila ($\text{HO}\bullet$), superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), peroxila (ROO^{\bullet}) e alcóxila (RO^{\bullet}); e os não radicalares: oxigênio, peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso. Dentre as ERN incluem-se o óxido nítrico (NO^{\bullet}), óxido nitroso (N_2O_3), ácido nitroso (HNO_2), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-) e peroxinitritos (ONOO^-) (HALLIWELL, 1999). Alguns desses compostos são altamente reativos no organismo, atacando lipídeos, proteínas e DNA; outros são reativos apenas aos lipídeos; e ainda existem alguns que são pouco reativos (BARREIROS; DAVID, 2006).

O mecanismo de ação dos antioxidantes na proteção celular contra esses radicais se dá através do impedimento na sua formação ou inibição e/ou interceptação, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular (BIANCHI; ANTUNES, 1999; LINDMARK-MANSSON; AKESSON, 2000). Uma ampla definição para antioxidante é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (SIES, 1993). Os compostos antioxidantes podem ser divididos em antioxidantes enzimáticos: superóxido-dismutase, catalase, glutatona peroxidase e não-enzimáticos: lactoferrina, vitaminas C, E e A, carotenoides e compostos polifenólicos (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Devido a natureza química distinta deste conjunto de moléculas antioxidantes presente nos alimentos, não há uma única ferramenta analítica que permita a identificação e a quantificação simultânea de todas elas, devendo-se atualmente empregar técnicas distintas, as quais são normalmente de alto custo e que levam longo tempo de análise. Alternativamente, pode-se empregar testes voltados a determinação da capacidade antioxidante total do leite em substituição a análise individual de cada composto antioxidante. Dentre as técnicas disponíveis destacam-se o “*Ferric Reducing Ability of Plasma*” (FRAP) que baseia-se na medida direta da capacidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzir, em meio ácido (pH 3,6), o complexo Fe^{3+} /tripiridiltriazona (TPTZ), para formar Fe^{2+} , conforme proposto por Benzie e Strain (1996), e o método de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), proposto por Kim (2002) com sua capacidade de reagir com substâncias doadoras de H^+ .

A medição da capacidade antioxidante total do leite representa uma ferramenta muito útil. Atualmente, há uma crescente especulação sobre o seu potencial antioxidante, pela presença de compostos como os carotenoides, (poli)fenóis e vitaminas, o que vem justificando o interesse no seu consumo associado a prevenção e tratamento de doenças humanas (LAGUERRE et al., 2007). Além disso, essas moléculas auxiliam na prevenção da oxidação lipídica do leite, o que pode levar a mudanças na qualidade sensorial e nutritiva do alimento (LINDMARK-MANSSON; AKESSON, 2000).

As reações oxidativas no leite são afetadas por uma complexa interação de compostos com ação pró e antioxidante. Muitos tipos de interações entre eles são possíveis e a função específica de cada antioxidante não pode ser facilmente definida na atualidade. Uma compreensão mais profunda destes mecanismos podem levar a manipulação e otimização de processamento do leite, assim como uma melhor avaliação da importância destes compostos para a saúde humana (HAUG, et al., 2007). No entanto, são raros os trabalhos dedicados a identificação de compostos antioxidantes no leite bovino, principalmente no Brasil. No leite, diversas são as moléculas que possuem propriedades antioxidantes, algumas delas como os carotenoides, vitamina A e compostos polifenólicos.

2.7 PIGMENTOS CAROTENOÍDICOS E VITAMINA A

Os carotenoides são produtos do metabolismo secundário vegetal, pertencentes ao grupo dos terpenos, responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha de vários vegetais, em tecidos fotossintéticos e não-fotossintéticos. Os carotenoides podem ser classificados em dois grandes grupos: carotenos, como por exemplo, o β -caroteno, que são estritamente hidrocarbonetos, e xantofilas, que são derivados do primeiro grupo e contêm funções oxigenadas, tais como luteína e zeaxantina (MINGUEZ-MORQUERA, 2002). A função principal e mais conhecida dos carotenoides é sua atividade pro-vitamina A. No entanto, esses são compostos reconhecidos também por possuírem ação antioxidante, anti-úlceras, anticarcinogênica e moduladores do sistema imunológico, atuando também na participação na diferenciação e comunicação celular (CHEW; PARK, 2004). (BENDICH; OLSON, 1989; SWANSON; PARKER, 1996). Além disso, a presença desses compostos gera uma coloração e cheiro peculiar a diversos produtos, sendo essas características sensoriais um excelente indicador de qualidade e responsáveis pela atração de muitos consumidores (AGABRIEL et al., 2007)

Investigações realizadas durante os últimos 70 anos têm mostrado que os pigmentos carotenóidicos presentes em frutas, vegetais e produtos lácteos são a principal fonte de vitamina A para a maioria das pessoas, especialmente nos países menos desenvolvidos, onde a deficiência de vitamina é um problema de saúde pública. O pigmento carotenóidico β -caroteno é o principal composto com atividade pró-vitamina A (MINGUEZ-MORQUERA, 2002). De acordo com diversos autores, o leite bovino é uma boa fonte alimentar de *all-trans-retinol* e β -caroteno (JERSEN; ROBERT, 1995; BERGAMO et al., 2003; PLOZZA et al., 2012), também sendo relatada a presença de outros carotenoides como luteína, zeaxantina e β -criptoxantina (BUTLER et al., 2008; LARSEN et al., 2010; SMITH, 2012). A condição para um carotenoide possuir atividade pró-vitamina A é apresentar pelo menos um anel- β em sua estrutura química. Porém, como para qualquer outro composto, a assimilação dos carotenoides envolve processos de absorção, transporte e metabolização no organismo (OLSON, 1993).

A conversão de carotenoides em retinol ocorre através da ação da enzima *β -caroteno-15, 15'-dioxigenase* na mucosa intestinal, que atua principalmente sobre o β -caroteno, gerando duas moléculas de retinol, subsequentemente reduzidas à retinol (vitamina A). Este é então, esterificado a uma longa cadeia de ácidos graxos, transportado e armazenado no fígado (MINGUEZ-MOSQUEIRA et al., 2002). Embora uma molécula de β -caroteno possa ser metabolizada em duas de retinol, ensaios *in*

vitro realizados em 1967 pela FAO/WHO estabeleceram que somente metade do β -caroteno é convertido em retinol e apenas um terço dos carotenoides é absorvido no intestino. Portanto, apenas um sexto do β -caroteno ingerido é metabolicamente disponível como vitamina A. O termo “equivalente em retinol” (ER) foi introduzido para expressar o teor em vitamina A (1 ER = 6 μ g de β -caroteno). Após a ingestão e absorção parcial, os carotenoides são depositados em vários tecidos, tais como plasma sanguíneo, tecido adiposo e na mácula ocular, onde luteína e zeaxantina são os carotenoides majoritários. A maior concentração de carotenoides se dá no plasma sanguíneo, sempre associados a lipoproteínas, principalmente a lipoproteína de baixa densidade (LDL) e muito baixa densidade (VLDL) (LUO et al., 2009). Dessa forma, constatou-se que deve haver um consumo mínimo de gordura para aumentar a absorção e o transporte desses compostos. Em humanos o consumo elevado de fibras, por exemplo, leva a uma diminuição da absorção de gorduras e conseqüentemente de outras substâncias lipossolúveis, tais como os carotenoides (BIANCHI & ANTUNES, 1999). Além disso, Oshima et al. (1997), afirmam que a presença de grupos funcionais oxigenados também aumenta a biodisponibilidade destes compostos.

O ácido retinoico, por sua vez, existe em duas formas principais: *all-trans*-ácido retinoico (ATRA) e *9-cis*-ácido retinoico (*9-cis*-RA). Esses análogos do retinol, juntamente com o retinaldeído e os retinil ésteres, compõem a classe dos retinoides, comumente encontrados no fígado, gema de ovo, derivados lácteos e triglicérides de peixe (SANTOS, 2012). Em condições nutricionais normais, o fígado é o principal local de armazenamento de vitamina A, podendo ser oxidada ou transportada para outros órgãos do corpo humano. A vitamina A é essencial para o crescimento e o desenvolvimento de seres humanos. Tem um importante papel na diferenciação tecidual e na manutenção da visão e das células das mucosas. Além disso, tem sido associada à prevenção do desenvolvimento de tumores da bexiga, mama, estômago e pele (BIANCHI & ANTUNES, 1999). Estudos epidemiológicos também mostraram que o consumo regular de alimentos com alto teor de vitaminas A e C pode diminuir a incidência de câncer retal e de cólon (LUPULESCU, 1993; DUTHIE et al., 1996). A dose diária recomendada para adultos, de acordo com a ANVISA (2005) é de 600 μ g de ER por dia. Contudo, as concentrações de retinol encontradas no leite de vaca variam consideravelmente entre os estudos (1 a 12 μ g g^{-1} de gordura) devido a diversos fatores, a exemplo de fatores dietéticos, raciais, estágio de lactação, paridade e estado nutricional do animal, além de variabilidades

individual e hereditárias, bem como a técnica de extração utilizada (MARTIN et al., 2004; NOZIÉRIE et al., 2006).

Sabe-se que muitas fazendas de produção animal recorrem à adição de compostos carotenóidicos na dieta dos animais como um método para incorporá-los em produtos obtidos a partir desses animais. Por exemplo, o β -caroteno pode ser adicionado ao alimento do gado para aumentar concentração de pró-vitamina A no leite. No caso do salmão, a cor vermelha da carne é devido à pigmentação com astaxantina e cantaxantina na dieta e, que pode ser introduzida artificialmente em animais criados em cativeiro (MÍNGUEZ-MOSQUEIRA et al., 2002). No entanto, esse tipo de conduta necessita ser rigorosamente assistida por um profissional habilitado e também requer um alto investimento financeiro. Em um sistema de produção sustentável tais práticas não são necessárias ou justificáveis.

Desta forma, na busca de métodos que venham a acarretar em um maior incremento de constituintes benéficos à saúde, de forma mais sustentável, muitos estudos têm relacionado o uso de pastagens frescas na dieta de vacas leiteiras com uma maior transferência de compostos fitoquímicos ao leite, dentre eles os pigmentos carotenóidicos (BUTLER et al., 2008; SLOT et al., 2009; LARSEN et al., 2010). Considerando a incapacidade de síntese dos carotenoides pelos animais, tem-se sugerido a presença dos mesmos no leite como marcadores químicos do manejo alimentar empregado (NOZIÉRIE, 2006, BUTLER et al., 2008; SLOTS et al., 2009). Os carotenoides majoritários encontrados em pastagens cultivadas de clima temperado são luteína, seguido de *all-trans*- β -caroteno, zeaxantina e epiluteína (PRACHE et al., 2003). Diferenças no perfil carotenóidico entre espécies podem decorrer da metodologia empregada ou da diversidade de moléculas encontradas em pastagens naturais (PRACHE et al. 2003; CALDERÓN et al., 2006). Contudo, há poucos relatos na literatura comparando os teores de carotenoides entre espécies forrageiras, havendo poucos registros sobre possíveis diferenças sistemáticas entre espécies cultivadas e pastagens naturais, ou entre gramíneas e leguminosas. Por outro lado, os processos de preservação tais como silagem e feno diminuem drasticamente os teores de carotenoides de suas matrizes. A silagem de milho, por exemplo, possui um baixo teor de carotenoides quando comparada às pastagens frescas. Segundo Nozière et al. (2006), a secagem ao sol de pastagens em condições aeróbicas diminui fortemente a concentração de carotenoides. Da mesma forma, na produção de concentrados para ruminantes, tem-se muitas vezes o aquecimento das matérias primas, acarretando em dimi-

nuição na concentração de carotenoides. Diante disso, está bem estabelecido na literatura que a melhor forma de agregar compostos carotenóidicos ao leite é a partir do uso de pastagens frescas (NOZIÈRE et al., 2006; SMITH, 2012). Fatores como a natureza da matriz alimentar bem como a quantidade fornecida podem influenciar nos teores desses compostos no leite. Além disso, é provável que os diferentes passos de transferência dos carotenoides da dieta para o leite também possam alterar o teor de carotenoides no alimento, os quais envolvem diferentes processos tais como a digestão, absorção intestinal, o transporte pelo plasma e a incorporação pela glândula mamária (NOZIÈRE et al., 2006). Além disso, os carotenoides possuem um significativo papel de proteção sobre o epitélio da glândula mamária de vacas em lactação, prevenindo a infecção da glândula mamária e no controle em quadros de mastite em ruminantes (CHEW et al., 1982). A deficiência de retinol nos ruminantes pode reduzir sua eficiência reprodutiva, através da diminuição da ovulação e aumento da incidência de aborto (HURLEY; DOANE, 1989).

2.8 COMPOSTOS POLIFENÓLICOS

Os compostos polifenólicos são produtos do metabolismo secundário vegetal que podem auxiliar no crescimento e reprodução, além de estarem envolvidos na resistência a patógenos, na defesa à herbivoria e contra a radiação ultravioleta (ROSS; KASUM, 2002). Esses compostos formados por estruturas simples e complexas possuem no mínimo um anel aromático, sendo pelo menos um hidrogênio substituído por uma hidroxila. Essas moléculas estão amplamente distribuídas no reino vegetal e nos microrganismos e fazem parte do metabolismo animal. Porém, os animais são incapazes de sintetizar anéis aromáticos, necessitando, todavia extraí-los da dieta (SIMÕES et al., 1999). Os compostos polifenólicos são classificados segundo o tipo do esqueleto principal em diferentes grupos conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação dos compostos polifenólicos

Esqueleto básico	Classe de compostos fenólicos
C6	fenóis simples, benzoquinonas
C6-C1	ácidos fenólicos
C6-C2	acetofenonas e ácidos fenilacéticos
C6-C3	fenilpropanoides
C6-C4	naftoquinonas

C6-C1-C6	xantonas
C6-C2-C6	estilbenos e antraquinonas
C6-C3-C6	flavonoides e isoflavinas;
(C6-C3) ₂	lignanás
(C6-C3-C6) ₂	diflavonoides
(C6) _n	melaninas vegetais
(C6-C3) _n	ligninas
(C6-C1) _n	taninos hidrossolúveis
(C6-C3-C6) _n	taninos condensados

Fonte: SIMÕES et al. (1999).

Esses compostos possuem comprovada ação antioxidante, interceptando os radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da auto-oxidação (BENZIE; STRAIN, 1996; BIANCHI; ANTUNES, 1999). No leite, pela sua natureza hidrofílica, esses compostos atuam na região aquosa e de interface óleo/água, prevenindo processos de oxidação dos lipídeos, aumentando a sua estabilidade (ARAUJO, 2008). Nesse sentido, o tipo de alimentação fornecida para vacas leiteiras pode afetar o conteúdo de pró-oxidantes e antioxidantes no leite, os quais tem influência na estabilidade oxidativa de seus produtos, atenuando ou até mesmo inibindo os processos da oxidação (LINDMARK-MANSSON; AKES-SON, 2000). A oxidação lipídica no leite pode ocasionar a deterioração das biomoléculas, provocando rancificação, perda de aromas e formação de *off-flavors*³. Uma maior concentração de compostos antioxidantes, como os (poli)fenóis em produtos contendo lipídeos é uma das principais formas de se minimizar a rancificação, retardar a formação de produtos tóxicos, manter a qualidade sensorial e nutricional e aumentar a vida de prateleira de produtos alimentícios (MAISUTHISAKUL et al., 2007). Além disso, os (poli)fenóis também são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade de produtos alimentícios e seus derivados (ANGELO; JORGE, 2007).

Adicionalmente, estudos apontam a eficácia do consumo de compostos polifenólicos por vacas em lactação na redução da incidência de doenças como o timpanismo e também no controle da tuberculose bovina (CORRÊIA; CORRÊIA, 1992). A atividade antioxidante dos compostos polifenólicos também vem atraindo setores da sociedade envolvidos com a saúde pública para auxílio na prevenção e tratamento de diversas doenças humanas (LAGUERRE et al., 2007). Estudos recentes demonstraram outros efeitos benéficos sobre a saúde relacionados à

³*Off-flavor*: sabor anormal ou mau sabor.

ingestão de compostos polifenólicos, como atividade antitumoral, atividade hipoglicêmica e atividade profilática e terapêutica sobre problemas cardiovasculares (MONTAGUT et al., 2009; PRASAIN et al., 2009; MARI et al., 2010;).

Estudos que associam o manejo utilizado por um sistema de produção com a qualidade do leite, ainda são raros no Brasil, principalmente, visando a determinação do perfil de compostos químicos benéficos à saúde humana. Devido a todas os aspectos relacionados à produção de leite de base agroecológica discutidos anteriormente, espera-se dos mesmos uma composição química diferenciada quando comparado aquele produzido pelo sistema de produção convencional. Dessa forma, o presente trabalho tem como hipótese que as diferentes formas de manejo alimentar utilizadas na produção leiteira do oeste catarinense, possam influenciar diretamente na qualidade do leite produzido, em relação aos compostos benéficos a saúde humana. Como objetivo pretendeu-se comparar o perfil de ácidos graxos, bem como o conteúdo de carotenoides, compostos polifenólicos e a capacidade antioxidante total do leite produzido em unidades familiares do oeste de Santa Catarina de manejo agroecológico com o convencional, durante as quatro estações do ano. Como perspectiva, os resultados encontrados poderão apontar o potencial da dieta como ferramenta para autenticação de um leite de melhor qualidade, visando determinar possíveis marcadores químicos que justificariam a indicação geográfica do produto.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Comparar a qualidade do leite cru, com ênfase na determinação do perfil de ácidos graxos e carotenoides, bem como o conteúdo de compostos polifenólicos e capacidade antioxidante total, em função da dieta oferecida aos animais, produzido em sistema agroecológico com convencional do oeste de Santa Catarina, durante as quatro estações do ano.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinação do perfil de ácidos graxos do leite produzido sob manejo agroecológico e convencional por cromatografia em fase gasosa;
- b) Avaliação qualitativa e quantitativa de carotenoides e vitamina A no leite oriundo da pecuária agroecológica e convencional por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE);

- c) Determinação dos teores de compostos polifenólicos totais no soro e extrato semi-purificado do leite produzido em sistemas agroecológicos e convencional;
- d) Determinação da capacidade antioxidante total do soro e extrato semi-purificado do leite agroecológico e convencional determinado pelo método de FRAP (“*Ferric Reducing Ability Power*”);
- e) Determinação do conteúdo de (poli)fenóis e capacidade antioxidante total via FRAP (“*Ferric Reducing Ability Power*”) e DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), do pasto coletado após observação dos animais em pastoreio, nas unidades agroecológicas e convencionais;
- f) Comparação dos perfis espectrais UV-visível (200-350 nm) dos extratos semi-purificados do leite e hidroalcolicos do pasto via Análise dos Componentes Principais-PCA;
- g) Correlacionar os teores dos compostos carotenóidicos e polifenólicos, bem como a capacidade antioxidantes total, encontrados na dieta com os do leite;

REFERÊNCIAS

- ABRAMOVAY, R. **Capital Social dos Territórios: Repensando o Desenvolvimento Rural**. Economia Aplicada, nº 2, vol. IV: 379-397. Abril. 2000.
- ABRAMOVAY, R. **Paradigmasdo Capitalismo Agrário em Questão**. 3ª ed. São Paulo. Edusp. 2007.
- AGABRIEL, C.; CORNU, A.; JOURNAL, C.; et al. Tanker milk variability according to farm feeding practices: vitamins a and e, carotenoids, color, and terpenoids. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 4884–4896, 2007.
- ALTIERI, M. **Agroecologia: a dinâmica produtiva da agricultura sustentável**. Porto Alegre : Editora UFRGS, 4.ed. 2004.
- ANA – **Articulação Nacional de Agroecologia**. Disponível em <www.agroecologia.org.br>. Acesso em: 10 dez, 2012.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Phenolic Compounds in Foods – A brief review. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005**. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (idr) de proteína, vitaminas e minerais. Disponível em < www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 13 fev. 2013.

ARAÚJO, J.M.A. Oxidação de lipídios em alimentos. In: **Química de Alimentos**. Universidade Federal de Viçosa. p.16-122, 2008.

BANNI, S.; ANGIONI, E.; MURRU, E. et al. Vaccenic acid feeding increases tissue levels of conjugated linoleic acid and suppresses development of premalignant lesions in rat mammary gland. **Nutrition and Cancer**, v. 41, p. 91–97, 2001.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M. Estresse Oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.1, p.113-123, 2006.

BAUMAN, D.E.; CORL, B.A.; PETERSON, D.G. The biology of conjugated linoleic acid in ruminants. In: **ADVANCES IN CONJUGATED LINOLEIC RESEARCH**, 2, 2003, Champaign. **Anais...**Champaign: AOC Press Champaign, p.146-173. 2003.

BAUMGARD, L.H.; CORL, B. A.; DWYER, D. A. et al. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. **América Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 278, p. 179–184, 2000.

BENDICH, A.; OLSON J.A. Biological Actions of Carotenoids. **FASEB Journal: official publication of Federation of American Societies of Experimental Biology**, v. 3, p. 1927–1932, 1989.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical biochemistry**, v. 239, n. 0292, p. 70–76, 1996.

BERGAMO, P.; FEDELE, E.; IANNIBELLI, L.; MARZILLO, G. Fat soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. **Food Chemistry**, v. 82, n. 4, p. 625-631, 2003.

BHATNAGAR, D.; DURRINGTON, P.N. Omega-3 fatty acids: their role in the prevention and treatment of atherosclerosis related risk factors and complications. **International Journal of Clinical Practice**, v. 57, p. 305-14, 2003.

BLANC, J.; KLEDAL, P. The organic sector of Brazil: prospects and constraints of facilitating smallholder inclusion. **Journal of Rural Studies**, v. 28, n. 1, 2012.

BRASIL. **Lei n.10.831, de 23 de dezembro de 2003**. Dispõe sobre a agricultura orgânica. In: IBD CERTIFICAÇÕES. Diretrizes e Legislação. Decreto da Lei 10.831 de Produtos Orgânicos. Disponível em <http://www.ibd.com.br/Downloads/DirLeg/Legislacao/05-Lei_10831_2003.pdf> Acesso em: 13 set, 2010.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição, Campinas**, v.12, n.2, p.123-130, 1999.

BUTLER, G., NIELSEN, J.H., SLOTS, T. et al. Fatty acid and fat-soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and organic systems: seasonal variation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.88, p. 1431–1441, 2008.

CALDERÓN, F.; TORNAMBÉ, G.; MARTIN, B. et al. Effects of mountain grassland maturity stage and grazing management on carotenoids in sward and cow's Milk. **Animal Research**, v.55, p. 533–544, 2006.

CANDELA, C. G.; LÓPEZ, L. M. B.; V. KOHEN, L. Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health.Nutritional recommendations. **Nutrición Hospitalaria**, v. 26, n.2, p. 323-329. 2011.

CARIS-VEYRAT, C. et al. Influence of organic versus conventional agricultural practice on the antioxidant microconstituent content of tomatoes and derived purees; consequences on antioxidant plasma status in humans.**Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 21, p. 6503-6509, 2004.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada** Tradução: Carla Dalmaz..3. ed.- Porto Alegre : Artmed, 2006.

CHAN, M. **Relatório de Avaliação Final Programa de Rede Comunitária de Acesso ao Mercado para Produtores Orgânicos** – OrganicsNet Operação ATN/ME 10485-BR – Projeto BR-M1051 BID/FUMIN Rio de Janeiro, 2010.

CHAYANOV, A. V. **La organización de la unidad económica campesina**. Buenos Aires, Nueva Visión, 1974.

CHEW, B.P., HOLLEN, L.L., HILLERS, J.K. et al. Relationship between Vitamin A and beta-carotene in blood plasma and milk and mastitis in Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 2111–2118, 1982.

CHEW, B.P.; PARK, J.S. Carotenoid Action on the Immune Response. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 257-261, 2004.

CORRÊIA, W.M.; CORRÊIA, C.N.M. **Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos**. São Paulo: MEDSI - Editora Médica e Científica Ltda, 2ª ed. 1992.

DHIMAN, T.R., ZANTEN, K.V., SATTER, L.D. Effect of dietary fat source on fatty acid composition of cow's milk. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 69, p. 101–107, 1995.

DHIMAN, T.R.; ANAND, G.R.; SATTER, D.; et al. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. **Journal Dairy Science**, v. 82, p. 2146–2156, 1999.

DUTHIE, S.J.; MA, A.; ROSS, M.A. et al. Antioxidant supplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes. **Cancer Research**, Baltimore, v.56, n.6, p.1291-1295, 1996.

ECOVIDA – **REDE ECOVIDA DE AGROECOLOGIA**. Disponível em <<http://www.ecovida.org.br/>> Acesso em: 15 dez, 2012.

ELGERSMA, A.; ELLEN, G.; VAN DER HORST, H. et al. Quick changes in milk fat composition from cows after transition from fresh grass to a silage diet. **Animal Feed Science and Technology**, v. 117, p. 13–27, 2004.

EMBRAPA – **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Disponível em <http://www.cnpq.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/>. Acesso em: 15 dez. 2012.

EPAGRI - **Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina**. Disponível em www.epagri.sc.gov.br/. Acesso em: 20 dez. 2012.

ERPEN, J. G. **A construção de um sistema agroecológico para a bovinocultura: “O PRV e a fazenda quero quero”**. (Dissertação em Agroecossistemas). Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

EUROPEAN COMMISSION. **Organic Farming**. Disponível em <http://ec.europa.eu/agriculture/organic/organic-farming/>. Acesso em: 21 ago, 2011.

FAO/WHO. **Joint Expert Committee on Food Additives**, WHO Tech. Rep. Ser., 362, 1967.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Perspectivas de la agricultura y del desarrollo rural en las Américas 2013: una mirada hacia América Latina y el Caribe**. Disponível em: <http://www.rlc.fao.org/en/publications/outlook-2013/>. Acesso em: 14 dez, 2012.

FANTI, M.G.N.; ALMEIDA, K.E.; RODRIGUES, A.M. et al. Contribuição ao estudo das características físico-químicas e da fração lipídica do leite orgânico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 259-265, 2008.

FELSOT, A. S.; ROSEN, J. D. Comment on comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 1, p. 146-149, 2004.

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2ª Edição Zaragoza: Acríbia, 1095p, 1993.

FRENCH, P., STANTON, C., LAWLESS, F. et al. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. **Journal Animal Science**, v. 78, p. 2849–2855, 2000.

FRITSCHÉ, J.; STEINHART, H. Analysis, occurrence, and physiological properties of trans fatty acids (TFA) with particular emphasis on conjugated linoleic acid isomers (CLA) – a review. **Lebensmittelchemie/Food chemistry.Fett/Lipid**, v. 100, n. 6, p. 190–210, 1998.

GRIINARI, J.M., CORL, B.A., LACY, S.H. et al. Conjugated linoleic acid is synthesised endogenously in lactating dairy cows by delta-9-desaturase. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 2285–2291, 2000.

HAUNG, A.; HØSTMARK, A. T.; HARSTAD, O. M. Bovine milk in human nutrition – a review. **Lipids in Health and Disease**, v. 6, p. 25, 2007.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, New York, v.52, n.8, p.253-265, 1994.

HALLIWELL B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement, mechanism and the effects of nutrition. **Mutation Research**, v. 443, n. 1-2, p. 37-52, 1999.

HEATON, S. Organic farming: food quality and human health. **Bristol: Soil Association**, p. 11-17, 2001.

HOOPER, L.; THOMPSON, R.L.; HARRISON, R.A. et al. Omega 3 fatty acids for prevention and treatment of cardiovascular disease. **Cochrane Database of Systematic Reviews** 4:CD003177. 2004.

HOOPER, L.; THOMPSON, R. L.; HARRISON, R. A. et al. Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer: systematic review. **Clinical Research**, v. 332, n. 7544, p. 752-760, 2006.

HURLEY, W.L.; DOANE, R.M. Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction. **Journal Dairy Science**, v. 72, p. 784–804, 1989.

IFOAM, **International Federation of Organic Agriculture Movements**. Disponivel em <www.ifoam.org>. Acesso em: 10 nov, 2012.

IP, C.; BANNI, S.; ANGIONI, E. Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 2135–2142, 1999.

JAHREIS, G.; FRITSCH, J.; STEINHART, H. Conjugated linoleic acid in milk fat: high variation depending on production system. **Nutrition Research**, v. 17, n. 9, p. 1479-1484, 1997.

JENSEN, R.G. Fat-soluble vitamins. In: _____. **Handbook milk composition**. San Diego: Academic Press. p. 718–725, 1995.

KAY, J.K.; MACKLE, T.R.; AULDIST, M.J.; THOMPSON, N.A. et al. Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed pasture. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 369–378, 2004.

KHANAL, R.C.; DHIMAN, T.R.; BOMAN, R.L. Changes in fatty acid composition of milk from lactating dairy cows during transition to and from pasture. **Livestock Science**, v. 114, p. 164–175, 2008.

KELLY, M.L.; KOLVER, E.S.; BAUMAN, D.E.; et al. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. **Journal Dairy Science**, v. 81, p. 1630–1636, 1998.

KEPLER, C.R.; HIRONS, K.P.; McNEILL, J.J.; et al.. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 241, p. 1350–1354, 1966.

KIM, Y. K.; GUO, Q.; PACKER, L. Free radical scavenging activity of red ginseng aqueous Extracts. **Toxicology**. v. 172. p. 149–156. 2002.

LECOMTE M. P.; VILLENEUVE, P. Evaluation of the ability of antioxidants to counter lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. **Progress in Lipid Research**, v. 46, p. 244-282. 2007.

LARSEN, M. K.; NIELSEN, J. H.; BUTLER, G. Milk quality as affected by feeding regimens in a country with climatic variation. **Journal Dairy Science**, v. 93, p. 2863–2873. 2010.

LAWLESS, F.; MURPHY, J.J.; HARRINGTON, D. et al. Elevation on conjugated *cis*-9, *trans*-11 octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation. **Journal Dairy Science**, v. 81, p. 3259–3267, 1998.

LINDMARK-MANSSON, H.; AKESSON, B. Antioxidative factors in milk. **British Journal of Nutrition**, v. 84, n. 1, p103-110, 2000.

LUPULESCU, A. The role of vitamins A, β -carotene, E and C in cancer cell biology. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v.63, n.3, p.3- 14, 1993.

LUO, M.; ESTÍVARIZ, F. C.; SCHLEICHER, L. R. et al. Prospective analysis of serum carotenoids, vitamin A and tocopherols in adults with short bowel syndrome undergoing intestinal rehabilitation. **Nutrition**, v. 25, n.4, p. 400–407. 2009.

MACHADO FILHO, L. C. P. Manejo de Pastagens na Produção Agroecológica. **Anais... II Workshop sobre Tecnologias para a Produção Animal Agroecológica**. Chapecó – SC, 2007.

MAISUTHISAKUL, P.; SUTTAJIT, M.; PONGSAWATMANIT, R. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1409-1418, 2007.

MARI, A.; TEDESCO, I.; NAPPO. Phenolic compound characterisation and antiproliferative activity of apple, a southern Italian cultivar. **Food Chemistry**, v. 123, p. 157–164, 2010.

MAPA- Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <www.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 30 nov, 2012.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n° 007 de 17 de maio de 1999**. Disponível em:

<<http://www.extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/>>. Acesso em: 28 nov, 2012.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 64 de 18 de dezembro de 2008**. Disponível em: <<http://www.extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/>>. Acesso em: 28 nov, 2012.

MASTERS C. n-3 Fatty acids and the peroxissome. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 65, n.2. p. 83-93.1996.

MARTIN, J.C.; VALEILLE, K. Conjugated linoleic acid: all the same or to everyone its own function? **Reproduction Nutrition Development**, v. 42, p. 525–536, 2002.

MARTIN, B.; FEDELE, V.; FERLAY, A; et al. Effects of grass-based diets on the content of micronutrients and fatty acids in bovine and caprine dairy products. **Grassland Science in Europe**, v. 9, p. 876–886, 2004.

MÍNGUEZ-MOSQUERA, I. M.; HORNERO-MÉDEZ, D.; PÉREZ-GÁLVEZ, A. **Carotenoids and Provitamin A in Functional Foods**. CRC Press LLC, 2002.

MONTAGUT, G.; BAIGES, I.; VALLS, J.; et al. A trimer plus a dimer gallate reproduce the bioactivity described for an extract of grape seed procyanidins. **Food Chemistry**, v. 116, p. 265–270, 2009.

NAGAO K, INOUE N, WANG YM. The 10trans, 12cis isomer of conjugated linoleic acid suppresses the development of hypertension in Otsuka Long–Evans Tokushima fatty rats. **Biochemical Biophysical Research Communication**. v. 306, p. 134–138. 2003.

NOZIÈRE, P.; GRAULET, B.; LUCAS, A.; MARTIN, B.; et al. Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. **Animal Feed Science and Technology**, v.131, p. 418–450, 2006.

OLSON, J.A. Vitamin A and carotenoids as antioxidants in a physiological context. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**. v. 39, p. 57–65, 1993.

OSHIMA, S.; SAKAMOTO, H.; ISHIGURO, J.; et al. Accumulation and clearance of capsanthin in blood plasma after the ingestion of paprika juice in men. **Journal of Nutrition**, v.127, p. 1475–1479, 1997.

O'SHEA, M.; BASSAGANYA-RIERA, J.; MOHEDE I. C.M. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 79, p.1199–1206, 2004.

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.

PARK, Y.M.; ANDERSON, M.J.; WALTERS, J.L.; et al. Effects of processing methods and agronomic variables on carotene contents in forages and predicting carotene in alfalfa hay with near-infrared-reflectance spectroscopy. **Journal Dairy Science**, v. 66, p. 235–245, 1983.

PINHEIRO MACHADO, L. C. **Pastoreio Racional Voisin: tecnologia agroecológica para o terceiro milênio**, São Paulo: Expressão Popular. p. 376. 2010.

PLOZZA, T.; TRENERRY, V. C.; CARIDI, D. The simultaneous determination of vitamins A, E and b-carotene in bovine milk by high performance liquid chromatography–ion trap mass spectrometry (HPLC–MSn). **Food Chemistry**, v. 134, p. 559–563, 2012.

PRACHE, S.; PRIOLO, A.; GROLIER, P. Persistence of carotenoid pigments in the blood of concentrate-finished grazing sheep: its significance for the traceability of grass feeding. **Journal Animal Science**, v. 81, p. 360–367, 2003.

PRANDINI, A.; SIGOLO, S.; TANSINI, G.; et al. Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy products from Italy. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 6, p. 472–479, 2007.

PRASAIN, J.K.; PENG, N.; DAI, Y.; et al. Liquid chromatography tandem mass spectrometry identification of proanthocyanidins in rat plasma after oral administration of grape seed extract. **Phytomedicine**, v.6, p.233–243, 2009.

ROSSET, P.M. A Crise da Agricultura Convencional, A substituição de insumos e o enfoque agroecológico. In: CRISTOFFOLI, Pedro Ivan. **Reforma Agrária e Meio Ambiente**. Ano 1. No. 2. Brasília. Edição e Publicação CONCRAB (Confederação das Cooperativas de SANTOS), Boaventura de Sousa. Revista Crítica de Ciências Sociais, p. 63, 2002.

ROSS, J.A.; KASUM, C.M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual Review of Nutrition**, v. 22, p. 19–34, 2002.

RYDER, J.W.; PORTOCARRERO, C.P.; SONG, X.M. et al. Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid. Improved glucose tolerance, skeletal muscle insulin action, and UCP-2 gene expression. **Diabetes**, v. 50, p.1149–57, 2001.

SALMINEN, I.; MUTANEN, M.; JAUHAINEN, M.; et al. Dietary trans fatty acids increases conjugated linoleic acid levels in human serum. **Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 9, p. 93–98, 1998.

SANTOS, O.V.; MARCONDES, T.; CORDEIRO, J.L.F. **Estudos da Cadeia Produtiva do Leite em Santa Catarina – Prospecção e Demandas**. Florianópolis. Epagri/Cepa. 2006.

SANTOS, A.L.F. **Estudo da Interação das Vitaminas A e E em microesferas de Quitosana: liberação controlada e fluidos gastrointestinais e em cremes hidratantes**. (Tese de Doutorado em Química) Universidade de Brasília. 2012.

SEBEDIO, J.L.; GNÄDIG, S.; CHARDIGNY, J. M. Recent advances in conjugated linoleic acid research. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 2, n. 6, p. 499-506, 1999.

SHINGFIELD, K.J.; REYNOLDS, C.K.; HERVÁS, G.; et al. Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. **Journal of Dairy Science, Champaign**, v. 89, p. 714 -732, 2006.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v.215, n.2, p.213-219, 1993.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, p. 819, 1999.

SIMOPOULOS, A.P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomed Pharmacother.** v. 56, p. 365–379. 2002.
SOBER- Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural. **Impacto Social de Inovações Tecnológicas na Agricultura Familiar: Tecnologias para Produção de Leite**. XLIII Congresso da SOBER “Instituições, eficiência, Gestão e Contratos no Sistema Agroindustrial”. Ribeirão Preto, 2005.

SLOTS, T.; BUTLER, G.; LEIFERT, C.; et al. Potentials to differentiate milk composition by different feeding strategies. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 2057–2066, 2009.

SMITH, J. M. **Variations in Carotenoids in Plasma From Jersey Cows at an Organic Dairy Compared to a Conventional Dairy Over Time**. University of New Hampshire University of New Hampshire Scholars' Repository. Undergraduate Student Research. 2012

STANTON, C.; LAWLESS, F.; KJELLMER, G.; et al. Dietary influences on bovine milk *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid content. **Journal Food Science**. v. 62, p. 1083–1086, 1997.

SWANSON, J.E.; PARKER R.S. Biological effects of carotenoids in humans. In: E. CADENAS AND L. PACKER. **Handbook of Antioxidants**, New York: Marcel Dekker Inc, p. 337–367, 1996

TURPEINEN, A.M.; MUTANEN, M.; ARO, A.; et al. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 76, p. 504–510, 2002.

USDA - **United States Department of Agriculture**. Disponível em: <<http://www.usda.gov>> . Acesso em: 03 mar, 2013.

VOISIN, A. **Dinâmica das pastagens**. 2. ed. São Paulo: Mestre Jou., 1979.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J.T.M.; GEURTS, T.J. **Dairy Science and Technology**. 2. ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 782 p. 2006.

WHO - World Health Organization. **Global Burden of Disease in 2002: data sources, methods and results**. 181p. Dec. 2003.

WILLIAMS, C.M. Dietary fatty acids and human health. **Animal Research**. v. 49, p.165–180, 2000.

CAPITULO 1 – Caracterização do perfil de ácidos graxos, carotenoides e vitamina A do leite produzido em unidades de produção agroecológicas e convencionais do oeste de Santa Catarina, ao longo das estações do ano

1. INTRODUÇÃO

O leite é um alimento reconhecido por conter compostos químicos benéficos à saúde humana, sendo a variedade de compostos encontrados relacionada à sua função de fornecimento de nutrientes necessários ao crescimento e manutenção do corpo e proteção imunológica ao neonato (MULLER, 2002). A gordura é um dos componentes mais importantes do leite bovino, pois além de conter uma mistura de ácidos graxos essenciais, traz consigo uma gama de compostos lipossolúveis, tais como pigmentos carotenóidicos, vitamina A e vitamina E (SECKIN et al., 2005).

O conteúdo de gordura é o componente mais variável do leite, podendo oscilar de 2,8 a 8,1%, dependendo da raça, aspectos nutricionais, características individuais, período de lactação, higiene e sazonalidade (MISISCKI et al., 2012). Devido ao seu elevado conteúdo de ácidos graxos saturados, a gordura do leite esteve durante muito tempo associada a uma variedade de doenças humanas, como doenças cardiovasculares e obesidade (BERGAMO et al., 2003). Mais recentemente, a descoberta de componentes saudáveis na gordura láctea, especialmente ácidos graxos poli-insaturados das famílias n-3 e n-6 tem modificado tal conceito (SIMOPOULOS, 1999; PETERSEN, 2011). Os ácidos graxos das famílias n-6 e n-3 de maior ocorrência no leite abrangem os ácidos graxos linoleico (AL) conhecido como n-6 e o linolênico (ALA) chamado de n-3, bem como o ácido linoleico conjugado (CLA), formado por uma mistura de isômeros posicionais e geométricos do AL (CHAMPE et al., 2006).

De acordo com Harris e Bachman (1988), a composição de ácidos graxos do leite pode ser influenciada por diversos fatores, principalmente aos associados à alimentação e potencial genético dos animais. Segundo Fennema (1993), mais de 90% dos lipídeos do leite são formados por triglicerídeos, sendo apenas 20 ácidos graxos, os mais representativos. O autor também destaca que além de ser o constituinte de maior variabilidade no valor total, os lipídeos estão mais sujeitos do que outros constituintes do leite à mudanças na composição influenciada por fatores ambientais, como por exemplo a dieta. Em relação à nutrição, sabe-

se que os ácidos graxos insaturados majoritários nas pastagens consumidas por ruminantes são justamente os ALA e AL. Também vale ressaltar que o CLA presente na gordura do leite é produzido a partir da biohidrogenação daqueles dois ácidos graxos, ocorrida no rúmen do animal ou pela transformação do ácido vacênico (AV) oriundo da biotransformação ruminal dos AL e ALA. Desta forma o AV pode atuar como um precursor para o CLA na glândula mamária (MEL'UCHOVÁ, 2008) e é o grande responsável pela biotransformação do CLA, encontrado em produtos e derivados de ruminantes (MARTIN et al., 2007). A partir do que foi exposto, fica evidente que o manejo alimentar dos animais possui forte influência sobre a quantidade de CLA disponível para a absorção pela glândula mamária e conseqüentemente sobre os teores no leite.

A despeito dos efeitos benéficos dos ácidos graxos insaturados é importante ressaltar a sua maior susceptibilidade à oxidação, o que pode acarretar em um produto impróprio para consumo mais rapidamente. Dessa forma, a fim de se manter a estabilidade oxidativa do leite, deve-se também manter elevado o conteúdo de antioxidantes associados à gordura, a exemplo dos carotenoides e vitaminas lipossolúveis (SLOTS et al., 2009). Os carotenoides são pigmentos vegetais transferidos ao leite através da dieta, acarretando em efeitos positivos não apenas sobre a estabilidade oxidativa das gorduras insaturadas, mas também sobre a qualidade nutricional do leite (GRANELLI, 1998). De fato, os carotenoides são reconhecidos por atuarem como antioxidantes, na participação da diferenciação e comunicação celular e principalmente, como precursores da vitamina A (CHEW; PARK, 2004). A vitamina A, por sua vez, apresenta um importante papel na diferenciação tecidual, na manutenção da visão e das células das mucosas e no funcionamento adequado do sistema imunológico, com conseqüências positivas também sobre a saúde animal (BIANCHI; ANTUNES, 2006). Adicionalmente, muitos desses constituintes lipofílicos também conferem peculiaridades sensoriais aos produtos, uma vez que atuam como antioxidantes, auxiliando na prevenção da oxidação de lipídeos ou conferindo coloração amarelada aos mesmos (NOZIÈRE, 2006; AGABRIEL et al., 2007). Alterações no perfil lipídico e nos teores de compostos antioxidantes do leite têm sido observadas em função do sistema de produção empregado (SLOTS et al., 2009; BESLE et al., 2010; BUTLER et al., 2011). No Brasil, são raros os estudos que associam a caracterização química do leite ao manejo utilizado, especialmente com ênfase nos compostos benéficos à saúde humana. Ainda nos dias de hoje, existem poucos estu-

dos comparativos entre os sistemas de produção orgânicos com os demais sobre a composição do leite (SLOTS et al., 2009; BUTLER et al., 2011). Igualmente escassos são os estudos que investigaram o efeito da ingestão de espécies de pastagens distintas por ruminantes sobre a qualidade do leite, com ênfase nos compostos abordados no presente trabalho (JAHREIS et al., 1997; BERGAMO et al., 2003; MORAND-FEHR et al., 2007).

No Brasil, como em outros locais do mundo, existem diversos sistemas de produção de leite, podendo variar do convencional ao agroecológico. Atualmente, a crescente preocupação da sociedade em consumir alimentos mais saudáveis, produzidos em sistemas sustentáveis tem impulsionado a pecuária agroecológica/orgânica. Em Santa Catarina, a busca por sistemas alternativos de produção alavancou o setor na região oeste. A existência de diferentes sistemas de produção faz daquela região um campo estratégico para estudos que visam avaliar o efeito do manejo sobre a qualidade do produto. Na literatura, não está bem estabelecido se a produção convencional a pasto, por exemplo, acarretaria em um leite com composição similar ao oriundo da pecuária orgânica ou agroecológica. Desta forma, este trabalho teve como objetivo comparar o perfil de ácidos graxos, carotenoides e vitamina A do leite produzido em sistemas convencionais e agroecológico, com certificação orgânica, em unidades de produção familiares do oeste de Santa Catarina. As unidades de produção foram diferenciadas principalmente em função do manejo alimentar utilizado, sendo o sistema convencional caracterizado pelo uso de concentrado e volumoso durante todo o ano, o convencional a pasto pelo menor uso de suplementos e maior participação de pasto na dieta assim como as agroecológicas. Neste caso, as propriedades possuem certificação orgânica pela Rede EcoVida, estando apenas duas delas no 2/3 da fase de conversão, conforme estabelecido pela legislação vigente. O presente estudo também teve como objetivo avaliar o efeito da sazonalidade sobre os teores desses compostos.

2. METODOLOGIA

2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram selecionadas 24 unidades familiares de leite (UFL) nos municípios de São Domingos e Novo Horizonte, no oeste de Santa Catarina (Figura 1). A partir de entrevistas semi-estruturadas e visitas técnicas às UFLs, as mesmas constituíram os tratamentos: (a) convencional

(CON), (b) convencional a pasto (CP) e (c) agroecológicas, com certificação orgânica (ORG) (n=8/tratamento).



Figura 1. Mapa com a localização dos municípios São Domingos e Novo Horizonte, localizados na região oeste de Santa Catarina. Fonte: BIT (2013).

Foram coletadas 192 amostras de leite a partir da ordenha completa de 3 animais fenotipicamente pré-selecionados em cada propriedade (75% holandesa x 25% Jersey), com o auxílio de um profissional da área da Ciência Animal e dos proprietários das unidades amostrais. Os animais tinham 4 a 6 meses de lactação, ao longo das quatro estações do ano. Dessa forma, alguns deles tiveram que ser substituídos ao longo do experimento, visando a manutenção do padrão de fenotipicidade e a fase de lactação entre os animais amostrados dentro de cada propriedade. As amostras coletadas foram armazenadas em tubos do tipo Falcon (50 mL) e transportadas em N₂ líquido para o laboratório para posterior análise. Para cada estação do ano, foram realizadas duas amostragens por propriedade nos seguintes meses: maio, agosto, outubro de 2011 e fevereiro de 2012, sendo uma na ordenha da manhã e outra na ordenha da tarde.

2.2 EXTRAÇÃO, METILAÇÃO E ANÁLISE DE ÁCIDOS GRAXOS NO LEITE

A extração de gordura das amostras de leite e a metilação dos ácidos graxos foi realizada utilizando-se o protocolo modificado da *International Organization For Standardization ISO/5509* (2000). Para a extração de gordura, as amostras de leite foram centrifugadas a 4°C à 4.650 rpm por 30 min. A gordura extraída (200 mg) foi metilada a partir da adição de 2 mL de KOH 10% em metanol, seguido de vórtex e adição de 2 mL de n-heptano. Após homogeneização, uma alíquota da fase heptânica (1 µL), contendo os ésteres metílicos foi injetada em cromatógrafo gasoso (Shimadzu GC, modelo 2014) equipado com detector de ionização de chama e coluna HP RT-2560 (Restek) (100 m × 0,25 mm × 0,2 mm). A temperatura do injetor foi 220°C e o gás nitrogênio foi utilizado para arraste, com um fluxo constante de 1,4 mL min⁻¹. A temperatura inicial da coluna foi 65°C, mantida por 5 min e, em seguida, programada para 170°C, durante 45 min. Subsequentemente, a temperatura foi aumentada 5°C min⁻¹ até a temperatura final de 240°C, mantida por 36,5 min, resultando em um tempo de corrida aproximado de 90 min. A temperatura do detector foi 240°C e a razão e o fluxo split foram 40:1 e 60 mL min⁻¹, respectivamente. Para cada amostra, foram realizadas duas metilações analisadas independentemente no cromatógrafo gasoso. A identificação dos compostos de interesse foi realizada comparando-se os tempos de retenção de padrões externos (Restek 35077, Supleco 46905-U e Sigma 05632) utilizando-se as mesmas condições cromatográficas bem como através da co-cromatografia dos mesmos com as amostras. A quantificação foi realizada através do cálculo das percentagens das áreas de cada éster de ácido graxo em relação a área total do cromatograma. Para a determinação do teor de gordura total nas amostras foi utilizado o método infra-vermelho (Internacional IDF Standart 141C: 2000).

2.3 EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS CAROTENOIDES TOTAIS E VITAMINA A NO LEITE

Os carotenoides e a vitamina A foram extraídos utilizando-se o protocolo modificado descrito por Hulshof et al. (2006). Para isso, adicionou-se a 6 mL de leite, 2,5 mL de solução de amônia (25% p/v) e 6 mL de etanol (96%, v/v). A gordura e os compostos associados a ela foram extraídos 2 vezes com 12 mL de éter etílico contendo BHT (0,0025%, p/v) e 12 mL de éter de petróleo. As amostras foram homogeneizadas e centrifugadas por 4 min a 3.000 rpm. O sobrenadante foi coletado e evaporado em fluxo de N₂ a 40°C e o resíduo seco saponificado pela adição de 9 mL de KOH (5%, p/v em etanol 96%, v/v) por 3h,

sob agitação (200 rpm). Após a adição de 9 mL de água, a mistura foi extraída com 3 mL de hexano. As frações organosolventes foram combinadas e evaporadas em rotaevaporador. O resíduo dissolvido em hexano foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Para tal, alíquotas (10 µL) de cada amostra foram analisadas em cromatógrafo líquido (Shimzadu LC-10A), equipado com coluna C18 de fase reversa (Vydac218TP54, 250mm x 4,6mm interno, 5µm) e pré-coluna (Vydac 218GK54,5µm), operando em 450 e 325 nm para carotenoides e vitamina A, respectivamente. A eluição consistiu de MeOH:CH₃CN (90:10, v/v). A identificação dos compostos de interesse (β-caroteno, zeaxantina, luteína e vitamina A) teve por base os tempos de retenção determinados a partir da análise de compostos padrões (Sigma-Aldrich), obtidos sob as mesmas condições experimentais. As extrações foram realizadas em duplicatas e as injeções em cromatógrafo líquido em triplicata.

2.4 EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CAROTENOIDES TOTAIS DA DIETA

Amostras da dieta dos animais foram coletadas em cada uma das propriedades 3 dias antes da coleta de leite, conforme proposto por Martin (2005). Amostras de aproximadamente 500 g de concentrado e silagem foram coletadas diretamente do local de armazenamento. Já as amostras de pasto foram coletadas dos piquetes através da simulação do pastoreio, após a observação dos 3 animais pré-selecionados para o estudo durante 30 min, segundo a metodologia descrita por Euclides et al. (1992). Para extração dos carotenoides, as amostras de concentrado e silagem foram secas em estufa a 45°C, até atingir peso constante, e em seguida trituradas em moinho de laboratório (TECNAL, Modelo Willye TE-648), utilizando-se peneira de 0,1 mm. As amostras de pasto foram liofilizadas (EDWARDS Micro-Modulyo) até total remoção da umidade a -36°C, e em seguida trituradas em moinho de laboratório (peneira de 0,1 mm). As amostras processadas foram submetidas aos procedimentos experimentais ou embaladas em sacos plásticos, sob vácuo, e conservadas a -20°C. Os carotenoides foram extraídos a partir da adição à 1,0 de concentrado e silagem (peso seco) ou 0,1 g de pasto (peso seco) de 20 mL de solução de hexano:acetona (1:1, v/v), contendo 0,0025% de hidroxitolueno butilado (BHT), seguido de maceração. Após agitação, protegidas da luz, por 30 minutos, as amostras foram filtradas sob vácuo e centrifugadas por 17 minutos (4.000 rpm). O sobrenadante foi coleta-

do e o solvente evaporado sob vácuo a 40°C, e o extrato concentrado foi ressuspensão em 3 mL de hexano. Em um funil de separação o extrato hexânico foi lavado com 9 mL de água destilada (3x). Apenas para as amostras de silagem e pasto procedeu-se com a etapa de saponificação, utilizando 900 µL de KOH 10% em metanol, por 24 h. Após a saponificação, o extrato hexânico foi lavado em funil de separação com 30 mL de água-destilada (4x). Os extratos foram submetidos à espectrofotometria UV-visível (Shimadzu 2301) para a determinação do teor de carotenoides, através da leitura da absorbância a 450 nm. A concentração de carotenoides totais foi calculada usando a fórmula de Lambert-Beer, considerando-se o coeficiente de extinção molar 2550 (hexano). As análises foram realizadas em triplicatas para as amostras de pasto e em duplicata para as amostras de concentrado e silagem.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade e, quando necessário, utilizou-se a transformação logarítmica para atender aos critérios de normalidade. Utilizou-se o modelo misto para análise de dados com medidas repetidas no tempo, com o efeito fixo de níveis de tratamento e estação do ano e suas interações. A estação do ano como medida repetida e a propriedade aninhada em nível de tratamento foi considerada a unidade experimental, utilizando o procedimento MIXED do SAS (versão 9.0). Dentre todas as estruturas de erros investigadas, a estrutura auto regressiva heterogênea de primeira ordem (ARH(1)) foi a melhor de acordo com o critério de informação bayesiano (BIC).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As principais características dos sistemas de produção das UFLs em estudo estão mostradas na Tabela 1. As UFLs do sistema convencional (CON) caracterizaram-se por possuírem maiores extensões de terra, número de animais em lactação, produção de leite do rebanho ($\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$) e produção por vaca ($\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$). Quanto à dieta, neste tratamento, eram utilizados em média 3,65 $\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$ (com base na matéria seca) de concentrado durante todo o ano, além de volumoso de acordo com a disponibilidade de pasto (Tabela 1). Já nas UFLs do tratamento convencional a base de pasto (CP), o uso de concentrado e volumoso era menor do que em CON, em média 2,36 e 5,50 $\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$, respectivamente. Em relação ao sistema de produção agroecológico (ORG), no presente estudo, o

mesmo caracterizou-se por possuir extensões menores de terra, com um número inferior de animais em lactação, bem como produção total do rebanho e produção por vaca (kg.dia^{-1}). No que diz respeito à dieta, a utilização de concentrado e silagem foi praticamente nula (Tabela 1). Cabe ressaltar que as unidades de produção agroecológicas, a partir de uma iniciativa liderada pela Associação das Cooperativas e Associação dos Produtores Rurais do Oeste Catarinense - ASCOOPER, passaram a produzir leite orgânico, certificado pela Rede Ecovida, o qual será comercializado a partir de 2013 pela marca ECOLAT®.

Tabela1: Características dos sistemas de produção convencional (CON), convencional a pasto (CP) e agroecológico (ORG) utilizados em unidades familiares de leite dos municípios de São Domingos e Novo Horizonte (oeste de Santa Catarina)

Parâmetros	Tratamentos		
	CON	CP	ORG
Área total (ha)	28,85 (9,61)	21,36 (6,62)	18,60 (4,48)
Área pastagem perene (%)	18,85 (7,01)	23,66 (10,37)	52,29(25,33)
Área pastagem anual (%)	38,69 (12,99)	38,12 (14,00)	13,26 (7,98)
Nº animais	26,00 (5,55)	19,00 (7,23)	13,00 (2,49)
Prod. Rebanho (Kg.mês^{-1})	18.775 (9,24)	10.627 (9,41)	3.916 (9,46)
Prod. vaca (Kg.dia^{-1})	22,77 (1,40)	17,20 (1,32)	9,56 (1,40)
Concentrado (kg.dia^{-1})	3,65 (0,11)	2,36 (0,13)	^a
Silagem de milho (kg.dia^{-1})	7,62 (0,38)	5,50 (0,31)	^b
Gordura total (%)	4,18 (0,09)	4,11 (0,09)	4,27 (0,09)

Os valores apresentados representam a média \pm erro padrão no ano avaliado. ^{a-b} Ingestão de matéria seca (kg.dia^{-1}) baseado em Stibuski et al., (2013). ^a utilizado apenas no inverno (2 propriedades) e primavera (1 propriedade), ambas com $0,80 \text{ kg.dia}^{-1}$. ^b utilizado apenas no inverno (3 propriedades) e primavera (1 propriedade), com $3,45$ e $1,56 \text{ kg.dia}^{-1}$, respectivamente.

3.1 PERFIL LIPÍDICO

O presente estudo identificou 37 ácidos graxos presentes na gordura do leite dos três sistemas. A seguir serão discutidos os resultados encontrados para os ácidos graxos de maior importância ou para aqueles

onde houve diferenças significativas entre os tratamentos ou estações do ano.

Os resultados da composição lipídica do leite amostrado nas UFLs convencionais e agroecológicas do oeste catarinense no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012 estão apresentados na Tabela 2. O perfil lipídico encontrado no presente estudo foi similar ao do leite produzido no sudeste brasileiro que comparou o leite comercializado como orgânico com o convencional (FANTI et al., 2008).

A percentagem de ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos mono-insaturados (AGMI) e ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) não diferiu entre os tratamentos. Por outro lado, o leite das UFLs do tratamento CON mostrou maior conteúdo dos ácidos graxos C16:0 e 16:1 c9, enquanto nas amostras do sistema ORG foram superiores os conteúdos dos ácidos graxos saturados C18:0 e C20:0, juntamente com o ácido graxo poli-insaturado C20:3 c11,14,17 (Tabela 2). Verificou-se também que a gordura do leite produzido predominantemente a pasto (CP e ORG) possuía conteúdos superiores do ácido graxo C22:0 quando comparada ao tratamento CON. Já o ácido graxo poli-insaturado C20:2 c13,16, foi superior no leite do sistema CP quando comparado aos demais.

Tabela 2. Composição de ácidos graxos e compostos antioxidantes lipossolúveis no leite produzido nos municípios de São Domingos e Novo Horizonte em sistemas convencional – CON, convencional a base de pasto–CP e Agroecológico-ORG.

Parâmetros	Sistemas de Produção			
	CON	CP	ORG	P
Ac. graxos (%)				
AGS	61,99(0,78)	59,59(0,78)	61,22 (0,78)	0,099
AGMI	27,84(0,68)	28,44(0,68)	27,85 (0,68)	0,770
AGPI	3,01(0,12)	3,15(0,12)	3,19(0,12)	0,594
C12:0	24,24 (2,04) ^a	16,81 (2,13) ^b	17,60 (2,04) ^b	0,031
C14:1 c9	7,51 (0,67) ^a	5,34 (0,69) ^b	5,01 (0,67) ^b	0,026
C16:0	30,73(0,67) ^a	28,17(0,67) ^b	28,58(0,67) ^b	0,022
C16:1 c9	1,30(0,05) ^a	1,20(0,05) ^a	1,05(0,05) ^b	0,005
C18:0	13,66(0,44) ^b	14,32(0,44) ^b	15,83(0,44) ^a	0,005
C20:0	0,24(0,01) ^b	0,25(0,01) ^b	0,28(0,01) ^a	0,007
C22:0	0,09(0,01) ^b	0,11(0,01) ^{ab}	0,12(0,01) ^a	0,008
C20:3 c11,14,17	0,03(0,01) ^b	0,02(0,01) ^b	0,04(0,01) ^a	0,005
22:2 c13,16	0,04(0,01) ^b	0,07(0,01) ^a	0,03(0,01) ^b	0,047
C24:0	0,57 (0,06) ^b	0,50 (0,06) ^b	0,74 (0,06) ^a	0,015
AVe Isomeros CLA (%)				

AV C18:1 t11	2,22(0,20) ^b	2,41(0,20) ^b	3,06 (0,20) ^a	0,013
CLA C18:2 c9 t11	0,96(0,07) ^b	1,10(0,07) ^{ab}	1,23(0,07) ^a	0,012
CLA18:2 t10 c12	0,01 (0,003)	0,01(0,003)	0,01 (0,003)	0,900
CLA18:2 c10 c12	0,02(0,01)	0,04(0,01)	0,05(0,01)	0,141
Ômega 3 e 6 (%)				
α -ALA C18:3 c9 c12 c15	0,38(0,02)	0,41(0,02)	0,44(0,02)	0,141
γ -ALA C18:3 c6 c9 c12	0,02 (0,01)	0,01 (0,01)	0,01 (0,01)	0,078
LA C18:2 c9 c12	1,30(0,07)	1,17(0,07)	1,11(0,07)	0,334
LA C 18:2 t9,t12	0,12 (0,01)	0,12 (0,01)	0,13 (0,01)	0,355
*Razão n-6/n-3	3,65 (0,31)	2,77 (0,32)	2,67 (0,31)	0,074
Antioxidantes lipossolúveis ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de gordura)				
β -Caroteno	7,52(0,77)	8,91(0,76)	7,70(0,78)	0,393
Luteína	0,77(0,14)	0,70(0,14)	0,95(0,14)	0,982
Zeaxantina	1,05(0,11)	0,97(0,11)	0,82(0,12)	0,282
Carotenoides Totais	9,38(0,76)	10,59(0,75)	9,52(0,76)	0,476
Vitamina A	15,20(1,01)	16,92(1,00)	15,62(1,02)	0,459

Os valores apresentados representam a média das áreas de cada éster de ácido graxo em relação à área total do cromatograma de duas extrações independentes. Os valores entre parênteses representam o erro padrão da média. ^{a-b} valores com letras distintas sobrescritas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em negrito. *Razão= (C18:2 c9 c12/ C18:3 c9 c12 c15).

As maiores concentrações dos ácidos graxos C16:0 e 16:1 c9, na gordura do leite do tratamento CON, podem estar relacionadas a um maior aporte de silagem (Tabela 1). Diferentes autores mostraram que vacas alimentadas com silagem, diferentemente daquelas alimentadas a base de pasto fresco, têm um aumento significativo de C16:0 e 16:1 c9 no leite (ELGERSMA et al., 2007; LARSEN et al., 2010). Já o aumento dos ácidos graxos C18:0 e C20:0, no tratamento ORG, pode sugerir um maior consumo de pastagem fresca. De acordo com Khanal (2008), vacas alimentadas com altos níveis de pastagens, produzem um leite com maior concentração daqueles ácidos graxos. O mesmo também foi verificado por Le Doux et al. (2002) para o leite de cabras. Estudos recentes mostraram uma relação direta entre a quantidade de C18:0 e o isômero CLA c9 t11 presente na gordura do leite (ALZAHAL et al., 2009). Mosley et al. (2002) verificaram, por exemplo, que o C18:0 é convertido no rúmen do animal em uma multiplicidade de *trans* isômeros posicionais, entre eles, o C18:1 t11 (AV), precursor do CLA. De fato, no presente estudo, o maior teor de C18:0, no leite agroecológico, esteve acompanhado de um aumento dos ácidos graxos nutricionalmente

desejáveis, o ácido vacênico (AV) e seu derivado, o CLA denominado ácido rumênico (AR C18:2 c9 t11). A mesma diferença não foi observada para o CLA minoritário, C18:2 t10 c12, e para os ácidos graxos poli-insaturados linoleico (AL) e linolênico (ALA) (Tabela 3). Teores superiores de AR (CLA cis-9 trans-11) no leite agroecológico em comparação ao oriundo da pecuária convencional tem sido observado por outros autores (JAHREIS et al., 1996; BERGAMO et al., 2003; BUTLER et al., 2008; SLOTS et al., 2009; PRANDINI et al., 2009), embora existam exceções (TOLEDO et al., 2002; ELLIS et al., 2006). Tem-se discutido que o teor de CLA no leite bovino é afetado pela ingestão de AGPI oriundo das pastagens (GRINARI et al., 1998; ADLER, 2013), sendo o CLA originalmente produzido pela biohidrogenação ruminal especialmente, através da síntese endógena do AV na glândula mamária, que por sua vez é sintetizado por AL e ALA. Dessa forma, pode-se sugerir que o maior conteúdo de C18:1 t11 e de CLA C18:2 c9 t11 no sistema ORG, tenha sido ocasionado pela maior ingestão desses precursores, quer tenha sido pelo maior consumo de pastagens frescas ou pela qualidade superior da pastagem disponibilizada. De fato, diferenças nos perfis de ácidos graxos - AGs do leite de acordo com a composição botânica das pastagens têm sido relatados por outros autores (COLLOMB et al. 2002; COPPA et al., 2010). No presente estudo, pode-se observar que a composição de espécies botânicas diferiu entre os sistemas de produção e estação do ano (Tabela 3). O emprego de mais de duas espécies na produção de leite foi encontrado exclusivamente nas UFLs do tratamento ORG, exceto no outono. Notou-se também composição botânica similar entre as UFLs dos sistemas convencionais (CON e CP) em todas as estações, a exceção do outono. Em relação as diferenças sazonais, no outono e verão, a composição botânica foi mais heterogênea, comparado ao inverno e primavera, principalmente para o sistema ORG. Os resultados obtidos no presente trabalho apontam para a influência da dieta à incorporação de AG, principalmente dos benéficos, CLA e seu precursor, AV, no leite e mostram ser este um diferencial do leite orgânico produzido em manejo agroecológico no oeste catarinense.

Tabela 3- Espécies das pastagens consumidas nos sistemas convencional – CON, convencional a base de pasto– CP e Agroecológico- ORG, durante as quatro estações do ano.

Estação	Tratamentos	Nome científico
	CON	<i>Avena sativa</i> ; <i>Eleusine indica</i> ; <i>Sorghum sudanensis</i> ; <i>Urochloa plantaginea</i>

Outono	CP	<i>Avena sativa; Avena strigosa; Cynodon dactylon; Lolium multiflorum; Sorghum sudanensis;</i>
	ORG	<i>Ageratum conyzoides; Amaranthus deflexus; Amaranthus spinosus; Axonopus affinis; Axonopus campresus kyllinga brevifolia; Lolium multiflorum; Paspalum mandiocanum; Paspalum umbrosum; Paspalum urvillei; Pennisetum purpureum; Plantago australis; Trifolium repens; Saccharum officinarum; Salidago chilensis</i>
	CON	<i>Avena strigosa, Lolium multiflorum</i>
Inverno	CP	<i>Avena strigosa; Lolium multiflorum</i>
	ORG	<i>Avena stigosa; Cynodon nlewuensis; Leonurus sibiricus; Lolium multiflorum; Paspalum urvillei; Penisetum cf setaceum; Plantago australis; Triflorium repens; Vicia sativa</i>
	CON	<i>Avena sativa; Lolium multiflorum</i>
Primavera	CP	<i>Avena sativa; Lolium multiflorum</i>
	ORG	<i>Avena stigosa; Cynodon nlewuensis; Leonurus sibiricus; Lolium multiflorum; Paspalum urvillei; Penisetum cf setaceum; Plantago australis; Triflorium repens; Vicia sativa</i>
	COM	<i>Pennisetum americanum; Sorghum sudanensis</i>
Verão	CP	<i>Pennisetum americanum; Sorghum sudanensis</i>
	ORG	<i>Desmodium affine Digitalia ciliari; Euphorbia heterophylla; Glicine max; Paspalum juergensii; Paspalum umbrosum; Pennisetum purpureum; Sorghum sudanensis; Urochloa plantaginea</i>

O efeito da sazonalidade sobre os teores de diversos ácidos graxos no leite foi evidenciado, como para C4:0; C6:0; C8:0; C10:0; C17:0; C18:0; C18:1c9; α -ALA-C18:3c9,12,15; AL-C18:2 t9,12; C20:0; C20:1 c11; C20:3 c11,14,17; C20:4c5,8,11,14 C21:0; C22:0; C22:2c13,16; C 24:0; C20:5c5,8,11,14,17, além dos AGMS e para a razão n-6/n-3 (Figura 2).

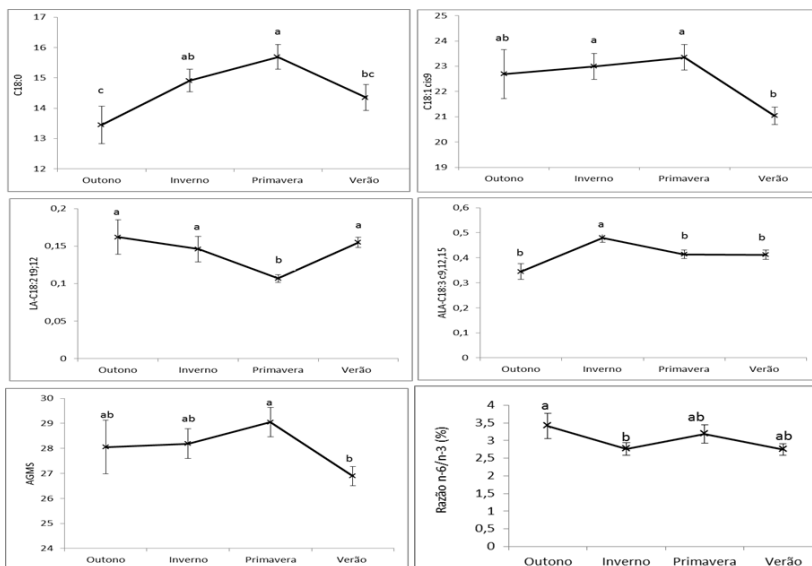


Figura 2- Diferenças sazonais encontradas para os principais ácidos graxos do leite coletado nas UFLs dos municípios de São Domingos e Novo Horizonte, no oeste de Santa Catarina ($p < 0,05$).

Maiores conteúdos dos ácidos graxos C18:1 c9, principal ácido graxo monoinsaturado e os AGMS, foram encontrados no outono, inverno e primavera, enquanto para o C18:0, o qual é um dos AG majoritário na gordura do leite, foi apenas no inverno e primavera (Figura 2). Já os conteúdos dos ácidos graxos poli-insaturados da família n-6, o AL (C18:2 t9,12), foram superiores durante todo o ano, a exceção da primavera. Para os ácidos graxos da família n-3, o α -ALA (C18:3 c9,12,15), conteúdos superiores foram encontrados somente no inverno. É sabido que o AL e o ALA são ácidos graxos oriundos da alimentação dos animais, ou seja, não são sintetizados por ruminantes. Dessa forma, os teores no leite refletem a quantidade metabolizada no rúmen (ADDIS, et al., 2005). Mel'uchová et al., (2008), por exemplo, verificaram que o teor de CLA é diretamente proporcional ao ALA das pastagens, enquanto o teor do AL nas pastagens é inversamente proporcional à do CLA na gordura do leite em ovelhas. Esses autores também demonstraram variações sazonais com conteúdos menores no conteúdo de AL nas pastagens e leite durante a primavera.

A razão n-6/n-3 mostrou flutuação sazonal, com valores superiores somente no outono quando comparado às demais estações do ano.

Uma menor razão entre eles significa uma maior quantidade de ALA do que AL encontrada no leite naquelas estações quando comparada ao outono. Os metabólitos provenientes do n-3 são precursores de mediadores químicos que atuam no processo anti-inflamatório, e portanto, são diretamente relacionados como benéficos à saúde humana, especificamente para uma dieta ocidental caracterizada por uma elevada proporção de gorduras saturadas e n-6 (CANDELA et al., 2011). Goodstine et al. (2003), por exemplo, relataram a associação inversamente proporcional entre o consumo de gordura com uma menor relação n-6/n-3 e à incidência de câncer de mama em mulheres. Portanto, é de interesse buscar uma diminuição naquela razão (n-6/n-3). No presente estudo, as variações sazonais encontradas para a razão n-6/n-3 no leite produzido no oeste catarinense apontam para um produto com características desejáveis. Da mesma forma, que para CLA e AV tais diferenças sazonais provavelmente devem-se ao maior consumo de pasto, e/ou a melhor qualidade das pastagens em determinados períodos. Sabe-se que as espécies de pastagens de clima temperado, possuem seu pico produtivo no inverno e as de clima tropical, no verão. É muito provável que o uso de pastagens frescas em todos os tratamentos, a despeito das possíveis diferenças na quantidade ingerida entre os tratamentos (Tabela 1), possa ter acarretado em uma menor razão n-6/n-3. Mel'chuvoá et al. (2008) também relata uma diminuição da razão n-6/n-3 no leite nas estações de pastagens. Por outro lado, não pode-se desconsiderar o efeito das diferenças no estágio de maturação das pastagens entre os sistemas de produção sobre a qualidade do pasto produzido nos períodos de inverno, primavera e verão.

Nossos resultados mostraram que a sazonalidade tem forte influência sobre o perfil de AG encontrado no leite dos sistemas CON, CP e ORG, principalmente sobre as porcentagens dos AG benéficos à saúde humana, como os precursores do CLA, o AL e ALA e sua razão. As diferenças encontradas, devem-se possivelmente às diferenças na composição botânica utilizada ao longo do ano, bem como aos fatores climáticos característicos de cada estação.

3.2 CAROTENOIDES E VITAMINA A

Os conteúdos de carotenoides totais, luteína, zeaxantina e β -caroteno, bem como, de vitamina A encontrados no leite produzido no oeste catarinense estão mostrados na Tabela 2. Os resultados encontrados para esses parâmetros revelaram que não há diferenças entre os

tratamentos. Resultado similar foi encontrado por Ellis et al. (2007) ao avaliar o conteúdo de β -caroteno do leite produzido por fazendas orgânicas e convencionais. No entanto, a maioria dos trabalhos vêm demonstrando teores superiores de compostos carotenóidicos e vitamina A no leite produzido a pasto e/ou em sistemas orgânicos quando comparados ao convencional (JAHREIS et al., 1997; JENSEN, 1999; BUTLER et al., 2008). Para aqueles parâmetros a variação dos teores entre os tratamentos foram 0,70 a 0,95; 0,82 a 1,05; 7,52 a 8,91 e 15,20 a 16,92 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de gordura para luteína, zeaxantina, β -caroteno e vitamina A, respectivamente. A predominância de vitamina A e β -caroteno em relação aos outros pigmentos, está de acordo com estudos prévios (JENSEN et al., 1999; NOZIÈRE et al., 2006 b). O perfil carotenóidico do leite pode ser resultante de uma maior absorção desses compostos do plasma pela glândula mamária ou uma maior capacidade da glândula mamária em clivar β -caroteno em vitamina A, conforme descrito por Schweigert e Eisele (1990).

É importante destacar que ao comparar os resultados encontrados no leite agroecológico/orgânico do oeste catarinense aos do Hemisfério Norte produzido em sistema orgânico, nossos resultados apresentaram conteúdos 32, 36, 82 e 61% superiores de β -caroteno, luteína, zeaxantina e vitamina A, respectivamente (CALDERÓN et al., 2007; BUTLER et al., 2008). Por outro lado, quando comparamos com os resultados do leite produzido em sistema extensivo, i.e., a pasto, do Hemisfério Norte, os valores para β -caroteno (9,3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de gordura) são similares aos do presente estudo (SLOTS et al., 2009). Dessa forma, fica evidenciado o papel dos carotenoides no leite como marcadores da produção a pasto, mas não do sistema de produção orgânico, que pode, muitas vezes, fazer uso de alimento concentrado e/ou volumoso e outros suplementos em substituição as pastagens frescas, desde que também orgânicos. É através do consumo de espécies de pastagens que tem-se a transferência dos carotenoides da matriz vegetal para a glândula mamária e dentre os alimentos utilizados na produção animal, são as pastagens frescas, as que possuem maior potencial para a produção de um leite com alto teor de carotenoides (NOZIERE et al., 2006a). Entretanto, os mecanismos envolvidos na secreção desses componentes na gordura do leite não estão claramente estabelecidos na literatura. De acordo com Noziere (2006a), a quantidade de carotenoides secretada no leite, pode estar relacionada a dois mecanismos. O primeiro relaciona a variação desses compostos à diminuição na produção de leite o outro relaciona a maior ou menor habilidade de captação desses pigmentos do plasma

para glândula mamária. No presente trabalho, as correlações negativas encontradas entre a porcentagem de gordura total do leite e o conteúdo de carotenoides totais (-0,21; $p=0,04$), luteína (-0,31; $p=0,002$) e zeaxantina (-0,34; $p<0,001$), corroboram com a primeira hipótese, pois com a diminuição da produção de leite, conseqüentemente ocorre uma diminuição da gordura total produzida, contribuindo assim para uma maior concentração de compostos carotenóidicos por unidade de gordura.

De forma complementar, além de comparar o leite produzido por sistemas distintos, também nos propusemos a investigar a correlação entre os teores de carotenoides do leite com os encontrados nas amostras da dieta consumida (Figura 3). Para as amostras de pasto, diferentemente do que ocorreu para o leite amostrado, pode-se verificar que os conteúdos de carotenoides totais variaram entre os tratamentos e as estações do ano. Maiores teores foram encontrados nas amostras de pasto do tratamento CON, durante o inverno, e do tratamento ORG, na primavera. No outono e verão não foram encontradas diferenças entre os tratamentos. Apesar de luteína ser reconhecidamente o carotenoide majoritário das pastagens, principalmente nas de clima temperado (KALAC et al., 2011), encontramos correlação negativa entre o conteúdo de carotenoides totais do pasto e o de luteína no leite (-0,23; $p=0,02$). Para zeaxantina (0,07; $p=0,47$) e β -caroteno (0,13; $p=0,20$) a correlação encontrada foi nula ou fracamente positiva, porém com valor de P não significativo. Esses resultados mostraram que o perfil carotenóidico do leite parece sofrer forte influência de mecanismos relacionados a absorção, transporte e deposição ocorridos no animal. Por outro lado, é importante notar que os resultados apresentados referem-se ao teor de carotenoides totais, não podendo-se desconsiderar a influência de um perfil carotenóidico distinto entre as espécies forrageiras que possam favorecer a secreção de maior ou menor quantidade daqueles compostos no leite. A determinação dos compostos carotenóidicos em espécies de pastagens tem sido pouco relatado na literatura. Park et al. (1983), por exemplo, encontraram 50% a mais de carotenoides em *Bromus inermis* e *Phalaris arundinacea* do que nos híbridos *Agropyron repens*. Já Chauveau-Duriot et al. (2005), constataram que *Trifolium pratense* possui 25% a mais de carotenoides do que *Lolium perene*. Em gramíneas tropicais, Reynoso et al. (2004) não encontraram diferenças nas concentrações de carotenoides e luteína entre *Cynodon dactylon* e *Digitaria decumbens*.

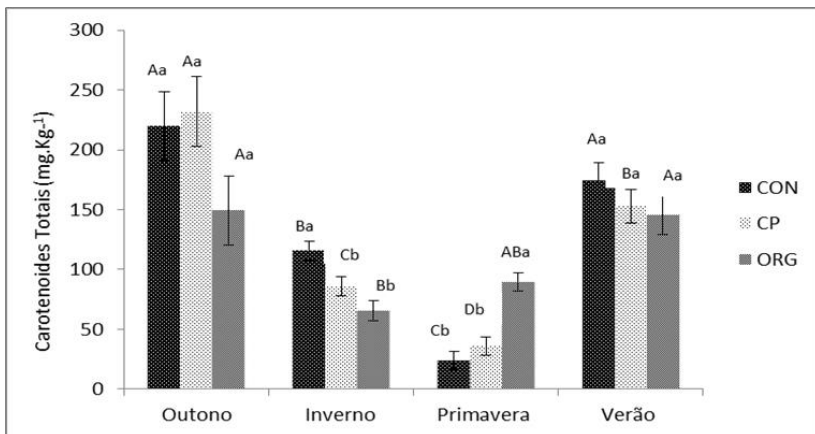


Figura 3- Conteúdo de carotenoides das espécies de pastagens consumidas nos sistemas CON, CP e ORG, durante as quatro estações do ano. ^{a-d} Valores com letras distintas sobrescritas indicam diferenças significativas ($p < 0,001$). Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da mesma estação. Letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos ao longo das estações.

Com relação às diferenças sazonais ficou evidenciado a semelhança nos teores de carotenoides totais nos pastos de outono e verão entre os três tratamentos, porém os maiores teores de carotenoides totais nas pastagens do sistema agroecológico quando comparado aos sistemas convencionais foi observado na primavera. A utilização de espécies temperadas, *Avena spp.* e *Lolium multiflorum*, nestas estações, pode ter acarretado nos baixos teores de carotenoides, em função do estágio de maturação avançado das mesmas, em relação às demais estações. De maneira geral, tem-se observado uma correlação inversa entre o aumento do estágio de maturação da planta e conteúdo de carotenoides (CALDERÓN et al., 2006, KALAC, 2011).

Da mesma forma que para o pasto, os conteúdos totais de carotenoides nas amostras de concentrado e volumoso coletados juntamente com o leite foram determinados (Figura 4). A análise não revelou diferenças entre os sistemas de produção, porém, foram observadas variações sazonais. Pode-se notar que o concentrado possuiu conteúdos aproximadamente 3 vezes inferiores que a silagem de milho. A silagem de milho, por sua vez, tem em média 10 vezes menos carotenoides que as pastagens frescas. Nozière (2006 a) relata que um maior aporte de concentrado na produção animal pode acarretar em um leite com um conte-

údo de carotenoides e algumas vitaminas reduzidos. O milho contém além de zeaxantina, quantidades menores de luteína, β -criptoxantina e β -caroteno (KUHLEN et al., 2011). Segundo a mesma autora as espécies comerciais de milho podem conter um teor de carotenoides de 7,19 a 25,59 $\mu\text{g g}^{-1}$. Além de conter menores teores de carotenoides, o próprio processamento dos alimentos para a fabricação dos concentrados, que muitas vezes envolve o aquecimento das matérias-primas, pode contribuir para a sua diminuição. Da mesma forma, o processo de preservação de alimentos como na produção de silagem e feno também acarreta na drástica diminuição nos teores de carotenoides comparado ao das pastagens frescas (KALAC, 2011). No presente estudo, os resultados estão de acordo com os descritos na literatura, tendo sido as maiores concentrações de carotenoides encontradas no pasto, seguidos de silagem e concentrado.

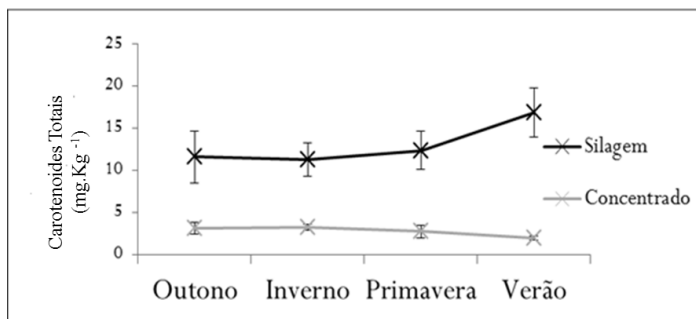
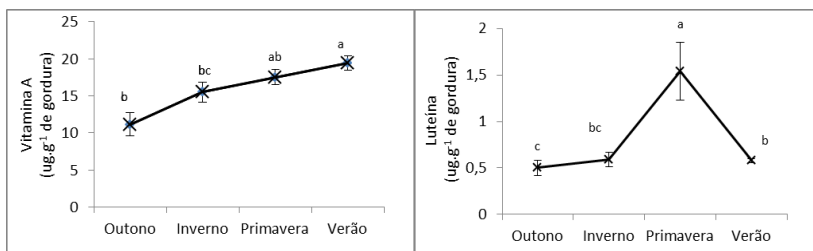


Figura 4- Variação sazonal na concentração média de carotenoides totais nas amostras de concentrado e silagem utilizados nas UFLs em estudo.

Ainda é interessante especular que as variações sazonais nos teores de carotenoides na dieta consumida teriam resultado na sazonalidade das xantofilas luteína e zeaxantina e da vitamina A no leite amostrado (Figura 5). Os maiores teores de luteína foram encontrados na primavera (1,54 $\mu\text{g.g}^{-1}$ de gordura) e de zeaxantina no verão (1,29 $\mu\text{g.g}^{-1}$ de gordura). Já o leite amostrado no verão e primavera possuíam maiores teores de vitamina A, enquanto para o β -caroteno, carotenoide pró-vitamínico A mais ativo, não foi observada variação sazonal. Os resultados estão de acordo com Yasmin et al. (2012) e Smit et al. (2000) que encontraram conteúdos de vitamina A menores no inverno e maiores no verão. Os resultados de sazonalidade das xantofilas, evidenciada no presente estu-

do, levantam a necessidade de aprofundamento dessa análise, principalmente por ter-se observado correlação negativa entre os teores de luteína e zeaxantina no leite (-0,196; $p=0,05$). Com a finalidade de encontrar as possíveis causas das flutuações sazonais de deposição dessas moléculas no leite e, em alguma extensão, nas pastagens, os dados ambientais levantados pela EPAGRI (2012) e INMET (2012) registrados durante os meses de amostragem no oeste catarinense foram analisados. Para a intensidade luminosa total, foram relatadas variações de 5,35 a 7,54 h.dia⁻¹, do inverno a primavera, respectivamente. A determinação pluviométrica revelou um período de forte estiagem na região, na primavera, sendo no total de apenas 128,0 mm. Já o total entre as demais estações foram de 166,8; 191,8 e 197,3 mm, no outono, inverno e verão, respectivamente. Os dados de intensidade luminosa foram maiores na primavera e menores no verão. Já para a densidade pluviométrica, os maiores valores foram no inverno e verão e inferiores na primavera. É interessante verificar que a flutuação sazonal ocorrida nas xantofilas no leite, está, em alguma extensão, relacionada a luminosidade e pluviometria. Por outro lado, as variações nos teores de carotenoides também podem ser influenciadas por fatores intrínsecos ao animal, como os relacionados a fisiologia de absorção, degradação e armazenamento (NOZIERI, 2006a).

Em conjunto tais resultados enchem-se de relevância considerando os poucos registros no Brasil relativos aos conteúdos de carotenoides e vitaminas no leite em associação com o sistema de produção empregado.



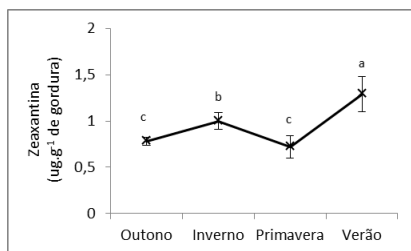


Figura 5- Diferenças sazonais encontradas para as xantofilas luteína e zeaxantina e vitamina A no leite coletado nas UFLs no Oeste de Santa Catarina. ($p < 0,05$)

4. CONCLUSÃO

- O leite agroecológico possuiu um perfil lipídico diferenciado, principalmente em relação aos teores de CLA e AV;
- A maior razão n-3/n-6 durante quase todo o ano e os elevados teores de carotenoides encontrados nas UFLs estudadas, apontam para uma qualidade nutricional desejável do leite produzido no oeste catarinense;
- Dentre os componentes da dieta, o pasto mostrou maior potencial como candidato à transferência de compostos carotenóidicos ao leite;
- Apesar das diferenças observadas nos teores de carotenoides no pasto em função do manejo utilizado e a sazonalidade, os teores destes compostos e de vitamina A não diferiram entre os sistemas

REFERÊNCIAS

ADDIS, M.; CABIDDU, A.; PINNAR, G.; et al. Milk fatty acid composition in sheep fed mediterranean forages with reference to conjugated linoleic acid cis-9, trans-11. **Journal of Dairy Science**. v. 88, p. 3443–3454, 2005.

ADLER, S. A.; JENSEN, S. K.; THUEN, E.; et al. Effect of silage botanical composition on ruminal biohydrogenation and transfer of fatty acids to milk in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p.1135–1147. 2013.

AGABRIEL, C.; CORNU, A.; JOURNAL, C.; et al. Tanker Milk Variability According to Farm Feeding Practices: Vitamins A and E, Carotenoids, Color, and Terpenoids. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 4884–4896, 2007.

ALZAHAL, O.; OR-RASHID, M. M.; GREENWOOD, S. L.; et al. The effect of dietary fiber level on milk fat concentration and fatty acid profile of cows fed diets containing low levels of polyunsaturated fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 1108–1116. 2009.

BESLE, J. M.; VIALA, D.; MARTIN, B.; et al. Ultraviolet-absorbing compounds in milk are related to forage polyphenols. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 2846–2856, 2010.

BERGAMO, P.; FEDELE, E.; IANNIBELLI, L. et al. Fat soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. **Food Chemistry**, v. 82, n. 4, p. 625–631, 2003.

BERGMAN, E.N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiology Review**, v.10, n.2, p.567-589, 1990.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n.2, p. 123-130, 1999.

BUTLER, G.; NIELSEN, J.H.; SLOTS, T.; et al. Fatty acid and fat-soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and organic systems: seasonal variation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.88, p.1431–1441, 2008.

BUTLER, G.; NIELSEN, J.H.; LARSEN, M.K.; et al. The effects of dairy management and processing on quality characteristics of milk and dairy products. **NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences**. v. 58, p. 97-102, 2011.

CALDERÓN, F.; TORNAMBÉ, G.; MARTIN, B.; et al. Effects of mountain grassland maturity stage and grazing management on carotenoids in sward and cow's Milk. **Animal Research**, v. 55, p. 533–544, 2006.

CALDERÓN, F.; CHAUVEAU-DURIOT, B.; PRADEL, P.; et al. Variations in Carotenoids, Vitamins A and E, and Color in Cow's Plasma and Milk Following a Shift from Hay Diet to Diets Containing Increasing Levels of Carotenoids and Vitamin E. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p.5651–5664, 2007.

CANDELA, C. G.; LÓPEZ, L. M. B.; V. KOHEN, L. Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health.Nutritional recommendations. **Nutritión Hospitalaria**. v. 26, n.2, p. 323-329. 2011

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada** Tradução: Carla Dalmaz.. 3. ed.- Porto Alegre : Artmed, 2006.
CHAUVEAU-DURIOT, B., THOMAS, D., PORTELLI, J., DOREAU, M. Carotenoids content in forages: variation during conservation. **Rencontres auteurs des Recherches Ruminants**, v.12, p. 117. 2005.

CHEW, B.P.; PARK, J.S. Carotenoid Action on the Immune Response. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 257-261, 2004.

ELGERSMA, A.; ELLEN, G.; VAN DER HORST, H.; et al. Quick changes in milk fat composition from cows after transition from fresh grass to a silage diet. **Animal Feed Science and Technology**. v. 117, p. 13–27, 2004.

ELLIS, K. A.; INNOCENT, G.; GROVE-WHITE, D.; et al. Comparing the fatty acid composition of organic and conventional milk. **Journal of Dairy Science**. v. 89, p. 1938–1950, 2006.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA. Disponível em: <www.epagri.gov.br>. Acesso em: 12 Dez. 2012.

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de diferentes métodos para se estimar o valor nutritivo de forragens sob pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.21, n.4, p.691-702, 1992.

FANTI, M.G.N., ALMEIDA, K.E., RODRIGUES, A.M., et al. Contribuição ao estudo das características físico-químicas e da fração lipídica

do leite orgânico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 259-265, 2008.

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2ª Edição. Zaragoza: Acrfbia, 1095p, 1993.

GOODSTINE, S. L.; ZHENG, T.; HOLFORD, T. R.; et al. Dietary (n-3)/(n-6) Fatty Acid Ratio: Possible Relationship to Premenopausal but Not Postmenopausal Breast Cancer Risk in U.S. Women. **American Society for Nutritional Sciences**. p. 1409 – 1414. 2003.

GRANELLI, K., BARREFORS, P., BJOERCK, L.; et al. Further studies on lipid composition of bovine milk in relation to spontaneous oxidised flavour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 77, n.2, 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.

HARRIS Jr., B.; BACHAMAN, K.C. Nutritional and management factors affecting solid-non-fat, acidity and freezing point of milk. Gainesville, **Institute of Food and Agricultural Sciences**, Florida Cooperative Extension Service, 1988.

HULSHOF, P.J.M.; VAN ROEKEL-JANSEN, T.; VAN DE BOVENKAMP, P.; et al. Variation in retinol and carotenoid content of milk and milk products in The Netherlands. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 67–75, 2006.

INMET. **Instituto Nacional de Meteorologia–Embrapa**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br>>. Acesso em: 24 out. 2012.

INTERNATIONAL STANDARDIZATION ISO/5509. **Animal and vegetable fats and oils — Preparation of methyl esters of fatty acids**. Second edition, p. 04-01. 2000.

JAHREIS, G.; FRITSCHKE, J.; STEINHART, H. Conjugated linoleic acid in milk fat: high variation depending on production system. **Nutrition Research**, v. 17, n. 9, p. 1479-1484, 1997.

JENSEN, S.K.; JOHANNSEN, A.K.; HERMANSEN, J.E. Quantitative secretion and maximal secretion capacity of retinol, beta-carotene and alpha-tocopherol into cows' milk. **Journal Dairy Research**. v. 66, p. 511–522. 1999.

KALAC, P. The effects of silage feeding on some sensory and health attributes of cow's milk: A review. **Food Chemistry**. v.125, p. 307–317. 2011.

KHANAL, R.C.; DHIMAN, T.R.; BOMAN, R.L. Changes in fatty acid composition of milk from lactating dairy cows during transition to and from pasture. **Livestock Science**, v. 114, p. 164–175, 2008.

KUHNEN, S. **Metabolômica e bioprospecção de variedades crioulas e locais de milho (*zea mays* L.)**. (Tese de Doutorado em recursos genéticos vegetais). Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC. p. 267. Florianópolis. Santa Catarina . 2007.

LARSEN, M. K.; NIELSEN, J. H.; BUTLER, G.; et al. Milk quality as affected by feeding regimens in a country with climatic variation. **Journal Dairy Science**, v. 93, p.2863–2873. 2010.

LE DOUX, M.; ROUZEAU, A.; BAS, P. et al. Occurrence of trans-C18:1 fatty acid isomers in goat milk: effect of dietary regimens. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.190-197, 2002.

MARTIN, B., VERDIER-METZ, I., BUCHIN, S., HURTAUD, C., COULON, J.B. **How do the nature of forages and pasture diversity influence the sensory quality of dairy livestock products?** *Animal Science*, v.81, p. 205–212. 2005.

MARTIN, C.A.; MILINSK, M.C.; VISENTAINER, J.V.; et al. Trans fatty acid-forming processes in foods: a review. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v.79, n.2, p. 343-350. 2007.

MICINSKI, J.; ZWIERZCHOWSKI, G.; KOWALSKI, I.M.; et al. The effects of bovine milk fat on human health. **Polishannals of medicine**, v.19, p. 170 – 175, 2012.

MEL'UCHOVÁ, B.; BLAKO, J.; KUBINEK, R.; et al. Seasonal variations in fatty acid composition of pasture forage plants and CLA content in ewe milk fat. **Small Ruminant Research**, v.78, p. 56-65, 2008.

MOSLEY, E.E.; POWELL, G.L.; RILEY, M.B. et al. Microbial biohydrogenation of oleic acid to trans isomers *in vitro*. **Journal of Lipid Research**, v.43, p. 290-296, 2002.

MORAND-FEHR, P., FEDELE, V., DECADIA, M., Le FRILEUX, Y. Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v. 68, p. 20–34. 2007. MÜLLER, E. E. Qualidade do leite, Células Somáticas e prevenção da mastite. In: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil, 2002, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM. p. 206-217. 2002.

NOZIÉRE P.; GRAULET, B.; LUCAS, A.; et al.. Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. **Animal Feed Science and Technology**, v. 131, p. 418–450, 2006a.

NOZIÉRE, P.; GROLIER, P.; DURAND, D.; et al. Variations in Carotenoids, Fat-Soluble Micronutrients, and Color in Cows' Plasma and Milk Following Changes in Forage and Feeding Level. **Journal Dairy Science**, v. 89, p.2634–2648. 2006b.

PARK, Y.M.; ANDERSON, M.J.; WALTERS, J.L.; et al. Effects of processing methods and agronomic variables on carotene contents in forages and predicting carotene in alfalfa hay with near-infrared-reflectance spectroscopy. **Journal Dairy Science**, v. 66, p. 235–245, 1983.

PETERSEN, M.B.; SOEGAARD, K.; JENSEN, S.K. Herb feeding increases n-3 and n-6 fatty acids in cow milk. **Short communication. Livestock Science**, v. 141, p. 90–94. 2011.

REYNOSOS, C.R.; MORA, O.; NIEVES, V.; et al. Beta-carotene and lutein in forage and bovine adipose tissue in two tropical regions of Mexico. **Animal Feed Science Technology**, v. 113, p. 183– 190, 2004. SCHWEIGERT, F.J.; EISELE, W. Parenteral beta-carotene administration to cows: effect on plasma levels, lipoprotein distribution and secre-

tion in the milk. **Zeitschrift für Ernährungswissenschaft**. v. 29, p. 184–191. 1990.

SECKIN K.A.; GURSOY, O; KINIK O.; et al. Conjugated linoleic acid (CLA) concentration, fatty acid composition and cholesterol content of some Turkish dairy products. **LWT – Food Science and Technology**, v.38, p. 909–915, 2005.

SIMOPOULOS, A.S. Essential fatty acids in health and chronic disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, p. 560–569. 1999.

SIMOPOULOS, A.P. Evolutionary aspects of diet, the omega- 6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. **Biomed Pharmacother**, v.60, n.9, p. 502- 507, 2006.

SHINGFIELD, K. J.; SALO-VAANANEN, P.; PAHKALA, E.; et al. Effect of forage conservation method, concentrate level and propylene glycol on the fatty acid composition and vitamin content of cows' milk. **Journal of Dairy Research**, v. 72, p. 349–361. 2005.

SLOTS, T.; BUTLER, G.; LEIFERT, C.; et al. Potentials to differentiate milk composition by different feeding strategies. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 2057–2066. 2009.

SMIT, L.; SCHONFELDT, H.; DEBEER, W.; et al. The effect of locality and season on the composition of South African whole milk. **Journal Food Composition**, v.13, n.4, p. 345–367. 2000.

SITBUSKI, R.B. **Avaliação da qualidade do leite produzido sob diferentes sistemas de produção no oeste de Santa Catarina.** (Dissertação de Mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Santa Catarina, 49 p. Florianópolis, Santa Catarina. 2013.

RUSSO, G.L. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. **Biochemistry Pharmacology**, v.77, n.6, p. 937-946. 2009.

TOLEDO, P.; ANDRÉEN, A.; BJÖRCK, L. Composition of raw milk from sustainable production systems. **International Dairy Journal**, v. 12, n. 1, p. 75-80, 2002.

YASMIN, A., HUMA, N., BUTT, M.S., et al. Seasonal variation in milk vitamin contents available for processing in Punjab, Pakistan. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**. v. 11, p. 99–105, 2012.

ZEOULA, L. M.; GERON, L. J.V. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal, SP: Funep, p. 355, 2006.

CAPÍTULO 2 - Comparação do perfil polifenólico e capacidade antioxidante total do leite agroecológico com o convencional produzido no oeste de Santa Catarina, ao longo das estações do ano

1. INTRODUÇÃO

A demanda por alimentos de origem animal de alto valor biológico e que minimizem o impacto ao meio ambiente encontra-se em expansão em todo mundo, destacando-se os provenientes da agropecuária agroecológica. Neste sistema de produção é restrito o uso de fertilizantes, pesticidas, antibióticos e anti-parasitários e vedado o uso de organismos geneticamente modificados (BRASIL, 2003). Nos últimos 5 anos, o comércio mundial de alimentos orgânicos movimentou mais de US\$ 50 bilhões, estimando-se aumentos anuais na ordem de 10 a 15% (EUROPEAN COMMISSION, 2010). No Brasil, o leite tem-se destacado dentre os produtos orgânicos (EMBRAPA, 2012).

Devido às peculiaridades dos sistemas de produção tais como fatores associados ao manejo, alimentação, potencial genético dos animais e condições climáticas, além dos relacionados à obtenção e armazenamento do leite recém-ordenhado tem-se observado diferenças na qualidade do leite oriundo da pecuária orgânica, comparado ao convencional (HARRIS; BACKMAN, 1988). Diversos estudos têm mostrado que, em termos de composição, os mesmos diferem principalmente quanto aos teores de ácidos graxos, especialmente o ácido linoleico conjugado – CLA, vitaminas e carotenoides (JAHREIS et al., 1996; BERGAMO et al., 2003; BUTLER et al., 2008; SLOTS et al., 2009; PRANDINI et al., 2009). Já a associação entre o sistema de produção e o perfil de (poli)fenóis e/ou a capacidade antioxidante total do leite tem sido pouco estudada. Um leite contendo maiores teores de compostos antioxidantes, devido ao seu consumo diário, poderia auxiliar na defesa contra radicais livres, acarretando em efeitos positivos sobre a saúde humana. Além disso, tais constituintes, em geral, contribuem para as características sensoriais dos alimentos e bebidas, particularmente na cor e sabor podendo gerar produtos com características originais (CHEYNIER, 2005).

Os agentes antioxidantes protegem células e biomoléculas contra os efeitos causados por radicais livres, através da inibição e/ou redução das lesões causadas por esses radicais. No leite, diversas são as moléculas que possuem propriedades antioxidantes, a exemplo das vitaminas A, E e C, os carotenoides e a proteína lactoferrina (LINDMARK-MANSSON, 2000). Considerando a natureza química distinta deste

conjunto de moléculas com ação antioxidante, não há uma única ferramenta analítica que permita a sua identificação e quantificação simultânea, devendo-se atualmente empregar técnicas distintas, as quais são normalmente de alto custo e que levam maior tempo de análise. Alternativamente pode-se empregar testes voltados a determinação da capacidade antioxidante total do leite em substituição a análise individual de cada composto antioxidante. Dentre as técnicas disponíveis destacam-se o “*Ferric Reducing Ability of Plasma*” (FRAP) que baseia-se na medida direta da capacidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzir, em meio ácido (pH 3,6), o complexo Fe^{3+} /tripiridiltriazona (TPTZ), para formar Fe^{2+} , conforme proposto por Benzie e Strain (1996), e o método de sequestro de radicais DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), proposto por Kim (2002) com sua capacidade de reagir com substâncias doadoras de H^+ .

De maneira geral, os compostos antioxidantes são classificados em enzimáticos e não-enzimáticos. Os enzimáticos são aqueles capazes de bloquear a iniciação da oxidação, pela remoção das espécies reativas de oxigênio. No segundo grupo, estão as moléculas que interagem com as espécies radicalares e são consumidas durante a reação, onde estão incluídos os compostos polifenólicos (ANGELO; JORGE, 2007). No leite, os compostos polifenólicos devido à sua solubilidade em água, atuam na região aquosa e de interface óleo/água, local de concentração dos iniciadores de oxidação de lipídeos, como íons metálicos e peróxidos (ARAÚJO, 2008), os quais são responsáveis pelos odores desagradáveis e pela deterioração da qualidade nutricional do leite, contribuindo para diminuição do tempo de prateleira do produto.

Os compostos polifenólicos são o maior e o mais disseminado grupo do metabolismo secundário. Esses compostos são classificados em diferentes grupos em função do número de anéis fenólicos e dos elementos estruturais que ligam estes anéis uns aos outros, podendo ser divididos nas classes: ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos e lignanas, entre outras (MANACH et al., 2004). Os compostos polifenólicos estão envolvidos no crescimento e reprodução, bem como em mecanismos de adaptação das plantas (SIMÕES, 1999). Condições de estresse tais como infecções, fermentos, radiações UV, atração de polinizadores ou animais dispersores de sementes, dentre outros, como alelopatia, são fatores que podem acarretar na indução da síntese desses compostos pelas plantas (HARBORNE, 1988; NACZK; SHAHIDI, 2004).

Embora as frutas cítricas e os vegetais sejam as principais fontes de compostos polifenólicos há um interesse crescente na transferência

desses compostos ou seus derivados para produtos de origem animal, os quais estão presentes diariamente na dieta da grande parte dos consumidores ocidentais (PIMENTEL et al., 2005; PETIT et al., 2009). Neste sentido, destaca-se o potencial dos ruminantes que consomem grandes quantidades de pastagens frescas, contendo elevado conteúdo de compostos aromáticos. Em se tratando de animais ruminantes é importante destacar a forte influência das enzimas secretadas pela microbiota do rúmen sobre a transformação e liberação desses compostos para absorção (CORTES et al., 2008). A incorporação de compostos polifenólicos de interesse ao leite através do manejo alimentar dos animais tem sido relatada por diversos autores (KING et al., 1998; CORTES et al., 2008; PETIT et al., 2009) com possíveis consequências sobre a produtividade e a qualidade do leite produzido bem como sobre a saúde dos animais e consumidores (O'CONNELL, 2001). Tem-se observado, por exemplo, que vacas que receberam alimentos com alto teor de compostos polifenólicos tiveram uma diminuição no processo de auto-oxidação de moléculas orgânicas provocado por radicais livres, prevenindo alterações bioquímicas nas propriedades sensoriais e nutritivas do leite produzido (MIN, 1998). No que se refere à saúde dos animais, o consumo de compostos polifenólicos por vacas em lactação está associado a redução da incidência de doenças como o timpanismo e, também estão associados ao controle da tuberculose bovina (CORRÊIA; CORRÊIA, 1992). Adicionalmente, a atividade antioxidante dos compostos polifenólicos também vem atraindo, mais recentemente, um crescente interesse de setores da sociedade envolvidos com a saúde pública para auxílio na prevenção e tratamento de doenças humanas como as cardiovasculares, câncer e osteoporose (LAGUERRE et al., 2007).

Devido ao potencial do consumo de espécies de pastagens na produção de um leite com capacidade antioxidante e composição polifenólica peculiar, o presente trabalho teve como objetivo verificar o potencial da dieta de vacas leiteiras sobre a composição e a sazonalidade desses compostos. Para isso foram analisadas amostras de leite e pasto, nas quatro estações do ano, oriundas de sistemas de produção agroecológica, com certificação orgânica e convencional. As unidades familiares de leite (UFL) do sistema convencional diferenciaram-se em função da quantidade de concentrado e silagem de milho, constituindo os tratamentos convencional (maior suplementação) e convencional a pasto (menor suplementação). Dessa forma, avaliou-se o potencial da composição polifenólica como ferramenta na autenticação do leite oriundo da pecuária agroecológica.

2. METODOLOGIA

2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Vinte e quatro propriedades familiares produtores de leite (UFL) foram selecionadas nos municípios de São Domingos e Novo Horizonte, no oeste de Santa Catarina, após a realização de visitas técnicas e entrevistas semi-estruturadas. As propriedades foram diferenciadas em função das características dos sistemas de produção em (a) convencionais (CON), (b) convencionais a pasto (CP) e (c) agroecológicas, com certificação orgânica participativa (ORG) (n=8/tratamento). Para a distinção das UFLs foram consideradas características como área total da propriedade, área destinada à pastagem perene, área destinada à pastagem anual, número de animais em lactação, produção do rebanho (kg.mês^{-1}), produção por vaca (kg.dia^{-1}), estimativa da quantidade de concentrado e volumoso consumido, bem como a utilização de insumos externos, como fertilizantes e agroquímicos. A produção total do rebanho, bem como a produção vaca/dia e o número de vacas em lactação, foram calculadas tomando como base as anotações realizadas pelos produtores. Já o fornecimento de concentrado e volumoso foram calculados através da percentagem de massa seca (MS), conforme analisado por Stibuski et al. (2013). Um panorama geral das características dos sistemas de produção está mostrado na Tabela 1.

Tabela 1- Caracterização das unidades de produção familiares de leite nos municípios de São Domingos e Novo Horizonte (oeste de Santa Catarina), agrupadas conforme o manejo utilizado em convencionais (CON), convencionais a pasto (CP) e agroecológicas (ORG).

Parâmetros	Tratamentos		
	CON	CP	ORG
Área total (ha)	28,85 (9,61)	21,36 (6,62)	18,60 (4,48)
Área pastagem perene (%)	18,85 (7,01)	23,66 (10,37)	52,29 (25,33)
Área pastagem anual (%)	38,69 (12,99)	38,12 (14,00)	13,26 (7,98)
Nº animais	26 (5,55)	19 (7,23)	13 (2,49)
Prod. Rebanho (Kg.mês^{-1})	18.775 (9,24)	10.627 (9,41)	3.916 (9,46)
Prod. vaca (Kg.dia^{-1})	22,77 (1,40)	17,20 (1,32)	9,56 (1,40)
Concentrado (kg.dia^{-1})	3,65 (0,11)	2,36 (0,13)	^a

Silagem de milho (kg.dia ⁻¹)	7,62 (0,38)	5,50 (0,31)	^b
Gordura total (%)	4,18 (0,09)	4,11 (0,09)	4,27 (0,09)

Os valores apresentados representam a média do ano avaliado. ^{a-b} Ingestão de matéria seca (kg.dia⁻¹) baseado em Stibuski et al., (2013). ^a utilizado apenas no inverno (2 propriedades) e primavera (1 propriedade), ambas com 0,80 kg.dia⁻¹. ^b utilizado apenas no inverno (3 propriedades) e primavera (1 propriedade), com 3,45 e 1,56 kg.dia⁻¹, respectivamente.

As propriedades do sistema de produção convencional (CON) caracterizaram-se por possuírem maiores extensões de terra, sendo 34% da área total das propriedades utilizada para plantio de espécies anuais e apenas 16% para produção de pastagens perenes. Além disso, foi observado um maior número de animais em lactação, com uma maior produção do rebanho bem como por animal. Quanto ao manejo alimentar, o sistema CON caracterizou-se pelo maior uso de suplementação (concentrado e volumoso). Já no sistema de produção convencional a base de pasto (CP), a contribuição da pastagem fresca na alimentação dos animais foi maior, embora os agricultores também adotassem a suplementação da dieta. Este sistema caracterizava-se por menor tecnificação quando comparado ao CON. Em relação ao sistema agroecológico (ORG), observou-se propriedades menores, com número inferior de animais em lactação, assim como uma produção total do rebanho e a produção por animal. Seis das propriedades agroecológicas eram, no período de coleta, certificadas como orgânicas através da Rede de Agroecologia Ecovida, e duas estavam no período de conversão. É importante destacar que todas as UFL ORG praticavam o manejo agroecológico, tendo como princípios básicos a integração da atividade animal, tanto quanto possível à produção vegetal, visando à menor dependência de insumos externos. Desta forma a utilização concentrado e volumoso foi praticamente nula nestas propriedades, com uma produção de leite majoritariamente a base de pasto (Tabela 1).

2.2 COLETAS

2.2.1 LEITE

Amostras de leite foram coletadas a partir da ordenha completa de 3 animais fenotipicamente pré-selecionados em cada UFL (75% holandesa x 25% Jersey), com o auxílio de um profissional da área de Ciência Animal e dos proprietários de cada uma das unidades amostrais.

Os animais tinham 4 a 6 meses de lactação, ao longo das quatro estações do ano. Desta forma, alguns animais tiveram que ser substituídos ao longo do experimento. Nas UFLs do oeste catarinense todos os rebanhos têm partos durante todo o ano, o que permitiu que alguns animais fossem substituídos ao longo do experimento, a fim de manter o padrão de fenotipicidade e média de lactação entre os animais amostrados dentro de cada UFL. Para cada estação do ano, foram realizadas duas amostragens por propriedade, sendo uma na ordenha da manhã e outra na ordenha da tarde. O leite amostrado foi armazenado em tubos Falcon de 50 mL e transportado em N₂ líquido ao laboratório (LMBV/CCA/UFSC).

2.2.2 PASTO

As amostras de pasto foram coletadas 3 dias antes da coleta do leite, conforme proposto por Martin (2005). Para isso, os animais selecionados para a coleta de leite foram observados no campo (30 min) e as espécies consumidas foram coletadas dos piquetes simulando o pastoreio, conforme metodologia descrita por Euclides et al. (1992). Nas UFLs em que havia mais de uma espécie de pasto na dieta consumida, procedeu-se com a análise de uma amostra composta (*pool* de espécies). As amostras foram liofilizadas (EDWARDS, Micro-Modulyo) até total remoção da umidade a -36°C, trituradas em moinho de laboratório (TECNAL, Modelo Willye TE-648) utilizando-se peneira de 0,1 mm e mantidas a -20°C até a realização dos procedimentos experimentais.

2.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

2.3.1 LEITE

a) Soro: Amostras de leite cru foram primeiramente desproteinizadas adicionando-se etanol (100%) à 500 µL de leite. Após um período de repouso (40 min), sob a ausência de luz, as amostras foram centrifugadas durante 15 min a 12.000 rpm, e o sobrenadante foi coletado, constituindo a fração denominada soro.

b) Extrato semi-purificado: Para a obtenção de um extrato semi-purificado rico em polifenóis (ERP), utilizou-se a técnica descrita por King et al. (1998). As amostras de leite foram desproteinizadas, utilizando-se metanol P.A. (12 h, -20°C), seguido de centrifugação (3.575 rpm, 15 min). O sobrenadante foi concentrado em rotaevaporador (40°C), ressuspenso em acetato de amônio (9:1 v/v) (1,5 mol.L⁻¹, pH

3,5) e mantido por 12 horas a 4°C. Após esse período, as amostras foram centrifugadas (5.000 rpm, 20 min) e o sobrenadante foi semi-purificado utilizando cartuchos C18, lavados previamente com MetOH, H₂O e acetato de amônia 0,15 M (pH 3,8). Para a eluição dos compostos de interesse utilizou-se MetOH:H₂O (4:1, v/v).

2.3.2 PASTO

A extração dos compostos de interesse foi realizada utilizando a técnica descrita por Oleszek et al. (2007), com algumas modificações. À 200 mg de amostra liofilizada foram adicionados 12 mL de EtOH/H₂O (v/v), mantidos sob refluxo por 30 min. O extrato foi filtrado sob vácuo e a fração etanólica concentrada em rotaevaporador, à 40°C, (50% do volume). Posteriormente, a fração aquosa foi seca em estufa à vácuo (40°C) e ressuspensão em EtOH/H₂O (50:50, v/v).

2.4 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS POLIFENÓLICOS TOTAIS

A determinação dos teores de compostos polifenólicos totais no soro e no ERP do leite e no extrato EtOH/H₂O das amostras de pasto foi realizada via Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). Os teores foram calculados com o auxílio de uma curva padrão externa de ácido gálico – Sigma (5 a 70 mg mL⁻¹, r²= 0,990 para leite) e (10 a 400 µg mL⁻¹, r²= 0,995 para pasto) e expressos em µg de equivalentes de ácido gálico.mL⁻¹ (µgEAG.mL⁻¹) de soro ou ERP do leite, e para tecido foliar expressos em mg de equivalentes de ácido gálico.g⁻¹ (mgEAG.g⁻¹). Adicionalmente, os extratos ERP do leite e EtOH/H₂O do pasto foram submetidos a varredura em espectrofotômetro UV-Visível (200 à 700 nm), considerando o intervalo de 1 nm por ponto amostral. As análises foram realizadas em duplicatas e triplicatas para leite e pasto, respectivamente.

2.5 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL

2.5.1 LEITE

A capacidade antioxidante total foi determinada no soro e no ERP do leite pela técnica “*Ferric Reducing Antioxidant Power*” (FRAP), utilizando o complexo Fe³⁺/tripiridiltriazona (TPTZ), conforme descrito

por Benzie e Strain (1996). Em tubos protegidos da luz, uma alíquota das amostras (10 µL) foi misturada a 300 µL do reagente FRAP [tampão acetato, pH 3,6, TPTZ (10 mM), FeCl₃ (20mM)], e incubados à 37°C por 10 min. A absorbância foi medida à 595 nm em leitor de Elisa. O teor de antioxidantes totais foi expresso em equivalente de FeSO₄ (µM FeSO₄). As análises foram realizadas em duplicatas.

2.5.2 PASTO

A determinação da capacidade antioxidante total das amostras de pasto foi realizada pelo teste “*Ferric Reducing Antioxidant Power*” (FRAP) (conforme descrito acima) e do sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), descrito por Kim et al. (2002). O ensaio do sequestro de radicais livres DPPH consiste na preparação de uma solução estoque com 0,1 mol.L⁻¹ do radical DPPH (1,1-difenil-2 picrilhidrazil – Sigma) em metanol. O sistema de avaliação da atividade antioxidante consistiu da adição de 2,9 mL da solução do radical a 100 µL do extrato em avaliação, seguido de agitação em vórtex e leitura da absorbância a 515 nm, após 30 min. A absorbância da solução inicial do DPPH sem a amostra foi medida, para ser utilizada como controle, devendo esta, estar entre 0,5 e 0,6. Considerando que os agentes antioxidantes causam um decréscimo na absorbância da solução de DPPH, a concentração remanescente do radical foi calculada através da fórmula DPPH% = $(DPPH_{t=0} - DPPH_t) / (DPPH_{t=0}) \times 100$, onde DPPH_{t=0}, é igual à absorbância no tempo zero e DPPH_t, é a absorbância final da amostra.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade e, quando necessário, utilizou-se a transformação logarítmica para atender aos critérios de normalidade. Utilizou-se o modelo misto para análise de dados com medidas repetidas no tempo, com o efeito fixo de níveis de tratamento e estação do ano e suas interações. A estação do ano como medida repetida e a propriedade aninhada em nível de tratamento foi considerada a unidade experimental, utilizando o procedimento MIXED do SAS (versão 9.0). Dentre todas as estruturas de erros investigadas, a estrutura auto regressiva heterogênea de primeira ordem (ARH(1)) foi a melhor de acordo com o critério de informação bayesiano (BIC). As varreduras dos extratos produzidos também foram submetidas à quimi-

ometria, através da Análise de Componentes Principais (PCA), utilizando matrizes de correlação, utilizando o programa Unscrambler (9.1).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO BOTÂNICA

A composição de espécies botânicas utilizadas ao longo do ano nas UFLs estudadas está mostrada na Tabela 2. Pode-se observar que apenas nas UFLs agroecológicas foram encontradas mais de duas espécies na dieta consumida pelas vacas em produção, exceto no outono. Vale ressaltar que nas UFLs agroecológicas, a composição botânica mais diversificada, constituída em grande parte, por espécies nativas da região, as quais não passaram por programas de melhoramento genético. Ainda com relação à composição botânica das pastagens verificou-se uma maior diversidade de espécies no outono e verão. No outono foram encontradas 3 famílias botânicas (Poaceae, Fabaceae e Plataginaceae) e 21 espécies e, no verão, 2 famílias (Poaceae e Fabaceae) e 10 espécies. Já no inverno e primavera foram encontradas 3 famílias botânicas (Poaceae, Fabaceae e Plataginaceae) e 9 espécies. No pasto utilizado pelas UFLs agroecológicas, por sua vez, diversos fatores entre eles a composição botânica, estágio de maturação, bem como fatores relacionados ao clima podem afetar o conteúdo de compostos com potencial antioxidante nas pastagens (BALLET et al., 2000; MARINO et al., 2010). Reynoso et al. (2004), por exemplo, relataram que a quantidade de β -caroteno em pastagens das mesmas espécies é dependente da temperatura e intensidade luminosa. No entanto, ainda há poucos relatos na literatura sobre compostos bioativos, tais como compostos polifenólicos, em pastagens frescas destinadas à produção de leite (KING et al., 1998; ANDERSEN et al., 2009; BELSLE et al., 2010). Considerando a diversidade de plantas utilizadas na alimentação de vacas leiteiras, encontrada na região oeste de Santa Catarina, o presente estudo, propôs-se a investigar a influência da composição botânica na incorporação de compostos bioativos ao leite, refletidas nas diferenças no perfil e teores de (poli)fenóis e na capacidade antioxidante total do leite produzido. Para isso, procedeu-se também com a análise dos mesmos componentes nas amostras das pastagens consumidas pelos animais avaliados.

Tabela 2- Composição das espécies forrageiras consumidas nas UFLs de manejo convencional (CON e CP) e agroecológicas (ORG) nas diferentes estações do ano

Estação	Trat.	Nome científico	Ocorrência (%)	
			Nº de sp.	%
Outono	CON	<i>Avena sativa</i> ; <i>Eleusine indica</i> ; <i>Sorghum sudanensis</i> ; <i>Urochloa plantaginea</i>	1	87,5
			2	12,5
	CP	<i>Avena sativa</i> ; <i>Avena strigosa</i> ; <i>Cynodon dactylon</i> ; <i>Lolium multiflorum</i> ; <i>Sorghum sudanensis</i> ;	1	87,5
			2	12,5
	ORG	<i>Ageratum conyzoides</i> ; <i>Amaranthus deflexus</i> ; <i>Amaranthus spinosus</i> ; <i>Axonopus affinis</i> ; <i>Axonopus campressus</i> ; <i>Kyllinga brevifolia</i> ; <i>Lolium multiflorum</i> ; <i>Paspalum mandiocanum</i> ; <i>Paspalum umbrosum</i> ; <i>Paspalum urvillei</i> ; <i>Pennisetum purpureum</i> ; <i>Plantago australis</i> ; <i>Trifolium repens</i> ; <i>Saccharum officinarum</i> ; <i>Salidago chilensis</i>	1	62,5
			2	12,5
			5	12,5
			9	12,5
	Inverno	CON	<i>Avena strigosa</i> ; <i>Lolium multiflorum</i>	1
2				25
CP		<i>Avena strigosa</i> ; <i>Lolium multiflorum</i>	1	75
			2	25
ORG		<i>Avena strigosa</i> ; <i>Bowlesiana incana</i> ; <i>Bromus catharticus</i> <i>Cerastium glomeratum</i> ; <i>Hypochaeris megapotamica</i> ; <i>Hypochaeris sp.</i> ; <i>Lolium multiflorum</i> ; <i>Paspalum umbrosum</i> ; <i>Plantago australis</i> ; <i>Trifolium repens</i> ; <i>Veronica arvensis</i> ;	1	12,5
			2	37,5
	4		25	
	6		25	
Primavera	COM	<i>Avena sativa</i> ; <i>Lolium multiflorum</i>	1	37,5
			2	62,5
	CP	<i>Avena sativa</i> ; <i>Lolium multiflorum</i>	1	75
			2	25

	ORG	<i>Avena stigosa</i> ; <i>Cynodon nlewuensis</i> ;	1	25
		<i>Leonurus sibiricus</i> ; <i>Lolium multiflorum</i> ;	2	25
		<i>Paspalum urvillei</i> ; <i>Penisetum cf setaceum</i> ;	3	37,5
		<i>Plantago australis</i> ; <i>Triflorium repens</i> ; <i>Vicia sativa</i>	5	12,5
Verão	CON	<i>Pennisetum americanum</i> ; <i>Sorghum sudanensis</i>	1	100
	CP	<i>Pennisetum americanum</i> ; <i>Sorghum sudanensis</i>	1	100
	ORG	<i>Desmodium affine</i> <i>Digitaria ciliari</i> ;		
	<i>Euphorbia heterophylla</i> ; <i>Glicine max</i> ;	1	12,5	
	<i>Paspalum juergensii</i> ; <i>Paspalum umbrosum</i> ;	2	25	
	<i>Pennisetum purpureum</i> ; <i>Sorghum sudanense</i> ; <i>Urochloa plantaginea</i> ;	3	62,5	

3.2 DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE COMPOSTOS POLIFENÓLICOS NOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DAS PASTAGENS

Os conteúdos de compostos polifenólicos das pastagens consumidas nos diferentes tratamentos, durante o período de coleta, estão mostrados na Figura 1. Os conteúdos variaram de 6,35 a 23,58; 7,10 a 23,04 e 9,46 a 11,25 mg EAG.g⁻¹ para os sistemas CON, CP e ORG, respectivamente. No outono e inverno foram encontrados conteúdos inferiores de compostos polifenólicos nas pastagens das UFLs agroecológicas comparados ao convencional (CON e CP). Diferentemente, na primavera, o pasto do tratamento ORG mostrou maiores teores de compostos polifenólicos. No verão, não foram observadas diferenças quanto ao teor desta classe de metabólito secundário entre os tratamentos. Os teores dos compostos polifenólicos das amostras das UFL CON e CP apresentaram um perfil sazonal similar, sendo maiores no outono e verão e menores na primavera. Esta variação sazonal similar observada nos tratamentos convencionais, deveu-se provavelmente também a composição botânica similar entre eles (Tabela 2). Esses resultados corroboram o relatado por Correia (1980) que atribui ao fator genético, o de maior influência, dentre os fatores intrínsecos e extrínsecos, para a concentração desses metabólitos nas pastagens.

Apesar da importância do potencial genético das plantas para a ativação da biosíntese de compostos polifenólicos está também ampla-

mente documentado na literatura a influência de fatores extrínsecos, com destaque para a iluminação, nutrição mineral, estresse, idade e estágio de maturação. Cabe destacar que nestes casos, a maioria dos trabalhos foram realizados com plantas destinadas ao consumo humano (HARBORNE, 1999). No presente estudo, também não pode-se desconsiderar a influência dos fatores extrínsecos sobre a sazonalidade dos compostos polifenólicos. Nos sistemas convencionais, com a utilização das mesmas pastagens exóticas, *Avena sp.* e *Lolium multiflorum*, do outono à primavera, por exemplo, observou-se flutuação sazonal no período, possivelmente devido aos fatores climáticos e ao estágio de maturação distinto das plantas. A menor produção de compostos polifenólicos neste (ORG) tratamento pode estar relacionada à uma maior adaptação das espécies ao local, com menor influência dos fatores climáticos. O aparecimento de metabólitos biologicamente ativos em plantas, segundo Rhodes (1994), é determinado por necessidades ecológicas e possibilidades biossintéticas. Paralelamente sugere-se que devido ao potencial adaptativo das pastagens do tratamento ORG, um menor efeito dos parâmetros sazonais pode ser constatado, ao longo do ano, em comparação ao sistema CON (Figura 1). Estudos prévios, também relataram variações sazonais no conteúdo de compostos polifenólicos das pastagens (KING et al., 1998; ANDERSEN et al., 2009). Apesar de ainda escassos, valores próximos aos do presente trabalho foram encontrados por outros autores, variando de 15,00 a 32,00 mg EAG.g⁻¹ (HARTLEY; JONES, 1977; BESLE et al., 2010). Para as espécies de pasto, *Trifolium repens* e *Lolium multiflorum*, por exemplo, foram relatados valores de 15,66 e 16,70 mg EAG.g⁻¹, respectivamente (HARTLEY; JONES, 1977; OLESZESK, et al., 2007). Em conjunto, os resultados mostraram que há necessidade de estudos mais aprofundados acerca do tema, para melhor compreensão para produção e/ou incorporação dos metabólitos secundários nas pastagens, bem como sua metabolização e incorporação no leite de ruminantes.

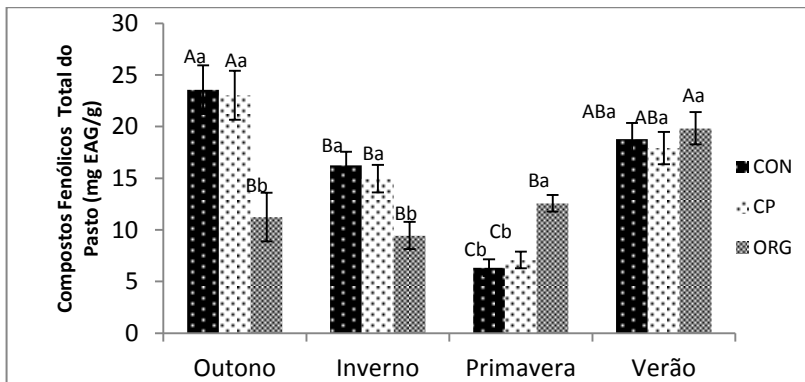


Figura 1- Conteúdos médios de compostos polifenólicos totais nas amostras de pasto consumido nas UFLs CON, CP e ORG. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da mesma estação. Letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos ao longo das estações (média \pm erro padrão). ($P < 0,05$)

3.3 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (CAT) DOS EXTRATOS HIDROALCÓLICOS DAS PASTAGENS

Os resultados da CAT dos extratos EtOH/H₂O das pastagens utilizadas na dieta de vacas em lactação dos diferentes tratamentos, ao longo do ano, estão apresentados na Figura 2. Ambos os ensaios, DPPH e FRAP, resultaram em valores similares, mostrando-se adequados à determinação da capacidade antioxidante total. Foram encontradas diferenças, independentemente da técnica utilizada (FRAP ou DPPH), entre os tratamentos no inverno, primavera e verão (entre tratamentos). No outono, a CAT dos três tratamentos foram similares para os dois testes realizados. Enquanto no inverno uma maior CAT foi detectada nas pastagens das UFLs do sistema convencional (CON e CP), na primavera, o maior potencial antioxidante foi encontrado nas pastagens do sistema ORG. No verão, apenas a técnica DPPH apontou diferenças entre os 3 tratamentos, sendo encontrada maior CAT para as amostras de CON em relação às agrocológicas. Além disso, como esperado, da mesma forma que para os compostos polifenólicos, flutuações sazonais foram detectadas para a CAT dos extratos analisados. Utilizando-se o ensaio DPPH, as amostras coletadas nas UFLs CON e CP, durante a primavera, mostraram menor CAT em relação às demais estações. No entanto, no ensaio de FRAP, não foram encontradas diferenças no outono, inverno e

primavera para amostras do tratamento CP. Ainda utilizando-se este mesmo teste, foram observadas nas UFLs agroecológicas uma menor CAT no outono e inverno comparativamente à primavera e verão. Os mesmos resultados em relação a flutuação sazonal foram observados quando os extratos do tratamento CON foram ensaiados com DPPH. Já a CAT dos extratos das amostras do tratamento CP foram diferentes entre primavera e inverno/outono. Para o tratamento ORG, no outono, primavera e verão foram detectadas maiores CAT em relação ao inverno. É importante salientar que embora ambos os ensaios se baseiem em processos de transferência de elétrons, não é incomum produzirem resultados diferentes, visto que as moléculas alvos diferem em relação aos níveis de atividade antioxidante (CAO; PRIOR, 1998). Efeitos sazonais na CAT em pastagens consumidas por vacas leiteiras também foram relatados por Caldwell e Robberecht (1980) e Al-Mamun et al. (2007), sendo maiores no verão e menores na primavera. Os autores mostraram a influência dos fatores climáticos, como a iluminação solar para os aumentos no verão e efeitos residuais de um inverno frio e severo para a diminuição dessas substâncias bioativas na primavera. Já Realini et al. (2004) encontraram relação entre CAT e a dieta, observando maior CAT no leite de vacas alimentadas a pasto comparado ao produzido com concentrado.

Considerando que a CAT dos extratos hidroalcolicos das pastagens amostradas diferiu de acordo com o sistema de produção empregado bem como entre as estações do ano, pode-se sugerir o potencial da seleção de pastagens (maior CAT) como uma ferramenta útil para a melhoria da saúde animal e aumento dos teores de compostos antioxidantes no leite produzido, com consequências positivas em relação a vida útil dos produtos e a saúde dos consumidores. Além disso, é sabido que os compostos antioxidantes naturais encontrados nas pastagens são cruciais para assegurar a estabilidade oxidativa de compostos de interesse como os ácidos graxos n-3, n-6 e o ácido linoleico conjugado - CLA (AL-MAMUN et al., 2007). No capítulo anterior do presente estudo, os resultados apresentados nos permitem afirmar que o pasto ingerido pelos animais tem um importante papel para a formação de ácidos graxos de interesse como o CLA. Assegurar o fornecimento de antioxidantes através de pastagens durante todo o ano é essencial para produzir produtos de origem animal de boa qualidade (AL-MAMUN, 2007).

A determinação da composição de compostos polifenólicos das espécies de pasto é muito pouco relatada na literatura. Alguns autores identificaram compostos, a exemplo dos fitoestrogênios e isoflavinas em

espécies de *Trifolium sp.* (ANDERSEN et al., 2009), cafeoil, glicosídeos e apigenina em *Dactylis glomerata* (JAY; LUMARET, 1995), ácido clorogênico em *Lolium perene* (TAKAHASHI et al., 1992) e ácido dicafeoilquínico e ácido clorogênico em pastagens diversas (BESLE et al., 2010).

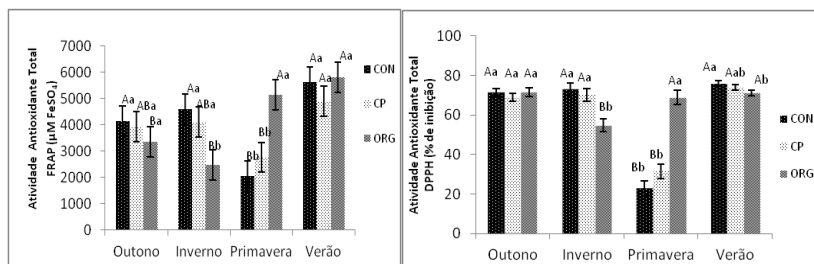


Figura 2- Capacidade antioxidante total dos extratos EtOH/H₂O, determinado pelos ensaios FRAP e DPPH, das amostras de pasto consumidas por vacas em lactação criadas nos sistemas CON, CP e ORG. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da mesma estação. Letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos ao longo das estações (média ± erro padrão). (p < 0,05)

Subsequentemente procedeu-se com a análise de correlação entre os teores de (poli)fenóis e a CAT dos extratos analisados (Tabela 3). Correlação positiva entre os ensaios FRAP e DPPH (0,528; <0,0001) mostra a eficácia e a confiabilidade de ambos os testes para a determinação da atividade antioxidante total dos extratos hidroalcológicos do pasto. Da mesma forma, verificou-se correlação positiva entre os teores de (poli)fenóis totais e a CAT, utilizando FRAP (0,700; <0,0001) ou DPPH (0,610; <0,0001) (Tabela 3). Tais resultados sugerem que os maiores responsáveis pela atividade antioxidante presente nos extratos são os compostos polifenólicos, demonstrando o potencial das pastagens para a produção de um leite contendo componentes bioativos além de demonstrar o seu potencial como fontes naturais daqueles compostos.

Tabela 3- Coeficientes de correlação de Pearson entre os parâmetros analisados em leite e pasto de UFLs do Oeste Catarinense.

	1	2	3	4	5	6
	-	-				
1	1,000	-	-	-	-	-
2	0,198*	1,000	-	-	-	-

3	-0,045	0,029	1,000	-	-	-
4	-0,117	0,344*	-0,008	1,000	-	-
5	-0,154	0,047	0,271 **	0,700 **	1,000	-
6	-0,212 *	0,151	0,012	0,610 ***	0,528 ***	1,000

1-Compostos polifenólicos do extrato semi-purificado do leite. 2- Capacidade antioxidante total do extrato semi-purificado do leite. 3- Capacidade antioxidante total do soro do leite. 4 - Compostos polifenólicos do pasto. 5 – Capacidade antioxidante do pasto (FRAP). 6- Capacidade antioxidante do pasto (DPPH). * $<0,05$ ** $<0,01$ *** $<0,001$

3.4 DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE COMPOSTOS POLIFENÓLICOS TOTAIS NOS EXTRATOS SEMI-PURIFICADOS DO LEITE

Os teores de compostos polifenólicos totais nos extratos semi-purificados, os quais foram designados como extratos ricos em (poli)fenóis (ERP) do leite de animais criados sob os manejos convencional e agroecológico estão mostrados na Figura 3. Os conteúdos variaram de 13,51 a 23,51; 8,35 a 20,25 e 8,26 a 21,78 $\mu\text{g EAG.mL}^{-1}$ nos tratamentos CON, CP e ORG, respectivamente. Teores inferiores de compostos polifenólicos no leite agroecológico comparado ao convencional (CON) foram detectados no outono e verão. No entanto, um aumento dos teores de compostos polifenólicos no leite agroecológico, no inverno e primavera, pode estar associado ao uso de pastagens de clima temperado (*Avena strigosa* e *Lolium multiflorum*), conforme mostrado na Tabela 2. Na Figura 1 podemos observar maiores teores de (poli)fenóis nas amostras de pasto do tratamento agroecológico justamente na primavera. Diferenças sazonais também foram evidenciadas no presente trabalho, com teores médios de compostos polifenólicos variando entre 10,73 a 21,75 $\mu\text{g EAG.mL}^{-1}$ ao longo das estações. Os menores teores foram encontrados no inverno e verão e os maiores no outono e primavera.

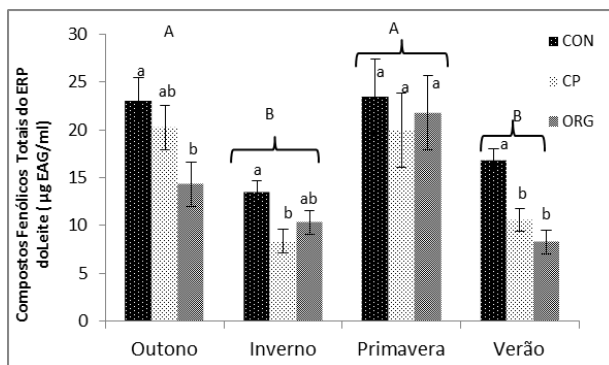


Figura 3- Conteúdos médios de (poli)fenóis totais no extrato semi-purificado do leite produzido pelos sistemas CON, CP e ORG em propriedades familiares do oeste de Santa Catarina. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da mesma estação. Letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos ao longo das estações (média \pm erro padrão). ($p < 0,05$).

O interesse na transferência de compostos bioativos ao leite tem sido o alvo de estudos recentes, os quais tem proposto o uso de fontes com alto teor de antioxidantes na alimentação de ruminantes, a exemplo de silagem de resíduos de uva (SANTOS et al., 2011). Neste caso, a suplementação da dieta de vacas com 7,5% de silagem de resíduos de uva não acarretou em aumentos nos teores de compostos polifenólicos totais no leite comparado ao produzido a base de silagem e farelo de soja. Entretanto, são as pastagens frescas as maiores fontes de compostos polifenólicos. De acordo com Correia (1980), as substâncias polifenólicas são o mais disseminado grupo entre os produtos do metabolismo secundário presente nas pastagens, podendo-se encontrar uma enorme diversidade de estruturas. Enquanto 127 compostos polifenólicos foram encontrados no leite de vacas alimentadas a pasto, apenas 87 foram encontrados no leite produzido a base de feno (BESLE et al., 2010). Os (poli)fenóis catecol e ácido 4-hidroxibenzóico foram o mais representativos no leite a base de pasto e os ácido fenilacético e apigenina, no leite à base de feno (BESLE et al., 2010). A dificuldade de identificação dos compostos polifenólicos no leite deve-se aos processos de transformação ocorridos no rúmen. Segundo Manach et al. (2004), a microbiota ruminal provoca a hidrólise desses compostos, resultando em vários ácidos aromáticos, os quais são absorvidos e potencialmente transferidos à glândula mamária. É provável que os diferentes passos de transferência dos compostos polifenólicos da dieta para o leite possam influenciar

na disponibilidade desses compostos para a glândula mamária. No presente trabalho, pode-se sugerir a influência da biodisponibilidade na secreção desses compostos no leite evidenciada pela correlação não satisfatória (-0,117; $p=0,256$) entre o conteúdo de compostos polifenólicos do leite e do pasto (Tabela 3). Esses resultados podem indicar uma possível influência da biotransformação desses compostos no rúmem do animal. Besle et al. (2010), por exemplo, mostraram uma composição polifenólica 1,5 vezes superior encontrada no leite comparada ao pasto.

3.3 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (CAT) DO SORO E DO EXTRATO SEMI-PURIFICADO DO LEITE

A Figura 4 mostra os resultados da CAT determinada no soro do leite amostrado nas UFLs dos diferentes sistemas. Embora o parâmetro de força de redução do íon Fe^{+3} do leite não tenha sido afetada pelo distinto manejo entre os sistemas de produção, diferenças significativas foram detectadas entre as estações do ano. A CAT variou de 185,06 a 231,77 $\mu M FeSO_4$ no inverno e verão, respectivamente. Esses resultados podem estar associados a um maior conteúdo de compostos polifenólicos nas amostras de pasto durante o verão (Figura 1). Além disso, naquela estação, pode ter ocorrido um possível maior consumo de pasto pelos animais comparativamente ao inverno. Por outro lado, é importante destacar que os resultados de CAT foram medidos no soro do leite, sendo este um extrato bruto que contém outros compostos com ação antioxidante, a exemplo de proteínas (confirmadas pelo método de Bradford - dados não mostrados). Outros compostos com ação antioxidante existentes no leite, além dos compostos polifenólicos, são as vitaminas A, E e C, carotenoides e a proteína lactoferrina. Os resultados encontrados no presente trabalho são similares aos de Chen et al. (2003), que encontraram valores entre 131 a 175 μmol de equivalentes de Trolox L^{-1} , no soro do leite bovino, comercializado na Suécia. Em relação aos parâmetros ambientais, Collomb et al. (2007), relataram que a atividade antioxidante presente no leite e queijo de fazendas produtoras na Suíça tem uma composição diferenciada em locais de altitude, visto ocorrer uma maior incidência de iluminação solar.

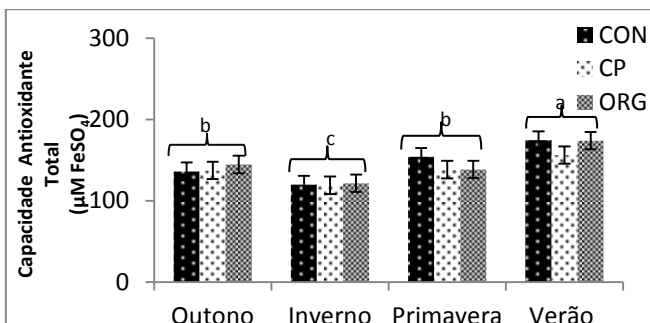


Figura 4- Capacidade antioxidante total do soro do leite produzido nas UFLs CON, CP e ORG (média \pm erro padrão). ($p < 0,05$).

A CAT dos extratos semi-purificados variaram de 14,52 a 25,29; 19,34 a 51,30 e 16,78 a 22,05 $\mu\text{M FeSO}_4$ para os tratamentos CON, CP e ORG, respectivamente (Figura 5). Pode-se notar que o maior valor de CAT do extrato semi-purificado foi 3,2 vezes inferior ao maior valor encontrado no soro do leite. Esse resultado corrobora à discussão anterior de que outros compostos estariam contribuindo para a CAT do soro do leite. Diferenças entre os tratamentos foram detectadas no outono, com as amostras de leite do tratamento CP apresentando maior CAT comparada aos outros 2 tratamentos. O mesmo ocorreu com a CAT dos extratos semi-purificados das UFLs CP, na primavera, em relação aos detectados no tratamento CON. Ainda para este parâmetro, houve uma variação de 14,51 a 51,30 $\mu\text{M FeSO}_4$ durante as quatro estações do ano. Entretanto, as diferenças entre as estações, foram significativas apenas para os sistemas convencionais (CON e CP), sendo o maior valor encontrado para o tratamento CP no outono (51,30 $\mu\text{M FeSO}_4$). Os resultados obtidos são similares aos encontrados por Santos (2011), no soro do leite de vacas alimentadas com silagem e farelo de soja, suplementadas com silagem de resíduos de uva (26,24 a 44,62 $\mu\text{g EAG.mL}^{-1}$).

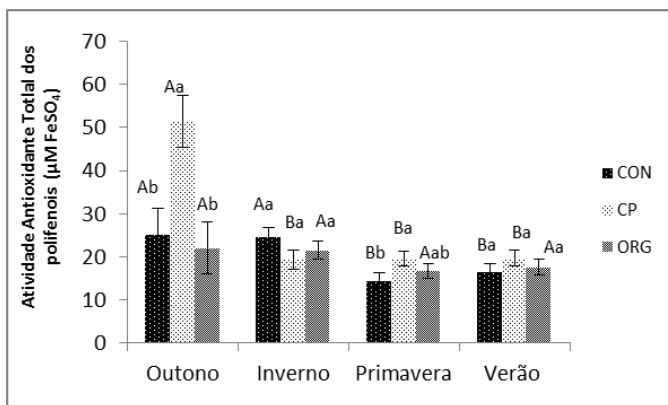


Figura 5-Capacidade antioxidante total dos extratos semi-purificados ricos em (poli)fenóis, produzido pelos tratamentos CON, CP e ORG. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da mesma estação. Letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos ao longo das estações (média \pm erro padrão). ($p < 0,05$).

Cabe destacar que foi encontrada correlação positiva entre o teor de (poli)fenóis totais do pasto e a CAT dos ERPs do leite (0,344; $p < 0,05$). O mesmo foi observado para a correlação entre o conteúdo de compostos polifenólicos totais do ERPs e a sua CAT (0,198; $p < 0,05$) (Tabela 3). Tais resultados sugerem que os compostos polifenólicos do pasto estão sendo incorporados ao leite e que os mesmos, no seu conjunto, possuem efetiva capacidade antioxidante. De fato, a atividade antioxidante de compostos polifenólicos está relacionado a sua natureza química (SIMÕES, 1999). Os flavonoides, por exemplo, que são moléculas relativamente estáveis, com estruturas químicas baseadas em C6-C3-C6 têm seu acúmulo menos influenciado pelo meio ambiente. São exemplos de flavonoides, a quercetina, miricetina e luteolina. Já os ácidos fenólicos por sua vez, são moléculas altamente reativas e podem estar presentes na natureza nas suas formas livres ou complexas, apresentando como estrutura básica C6-C1 como os ácidos gálico, salicílico e gentísico. Além disso, os resultados encontrados sugerem a necessidade de se mensurar a atividade antioxidante de um extrato utilizando ensaios distintos, a exemplo do FRAP, DPPH ou ABTS, através da captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), entre outros. No presente estudo, por exemplo, foi encontrada correlação positiva entre a CAT do soro do leite e do pasto, determinados pelo ensaio FRAP (0,271; $p < 0,0075$), mas não pela técnica de DPPH (0,012 $p =$

0,9055) (Tabela 3). Por outro lado, a correlação positiva encontrada entre a CAT do pasto e do soro do leite, mesmo que apenas para os resultados encontrados via FRAP, demonstra que os compostos antioxidantes das pastagens, em alguma extensão, estão sendo incorporados ao leite. Esses resultados contribuem para demonstrar a eficácia das pastagens como fontes importantes de antioxidantes para produção de um leite de melhor qualidade.

3.4 COMPARAÇÃO DOS PERFIS ESPECTRAIS UV-VISÍVEL DOS EXTRATOS SEMI-PURIFICADOS DO LEITE E HIDROALCÓLICOS DAS PASTAGENS VIA ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

Os perfis espectrais UV-visível (200 a 700 nm) dos extratos, ERPs do leite e hidroalcólicos do pasto, das amostras de inverno estão mostrados na Figura 6. A análise dos espectros revelou perfis similares entre as amostras, tendo sido encontrado os maiores valores de absorbâncias na região característica para compostos aromáticos. As pequenas discrepâncias entre os perfis, embora existam, são difíceis de serem detectáveis a olho nú, justificando o emprego da análise multivariada dos dados. O emprego dessas ferramentas, em especial a análise de PCA, tem sido utilizado actualmente para distinção dos perfis espectrais UV-visível, de infravermelho ou de ressonância magnética nuclear de matrizes complexas, como as do presente estudo (LEMOS, 2010, KUHLEN et al., 2010; MARASCHIN et al., 2012). O seu uso permite a identificação, na estrutura dos dados, padrões de similaridade, representados pela localização próxima aos eixos componentes principais (LEARDI, 2003; FUKUSAKI, KOBAYASHI, 2005). Diante disso, procedeu-se com a análise de PCA dos perfis espectrais UV-visível visando detectar possíveis padrões de agrupamento indicativos de diferenças de composição polifenólica.

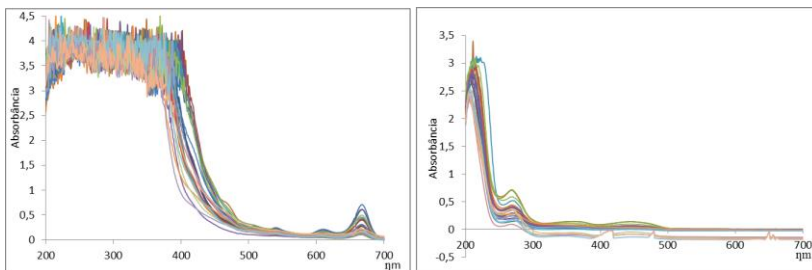
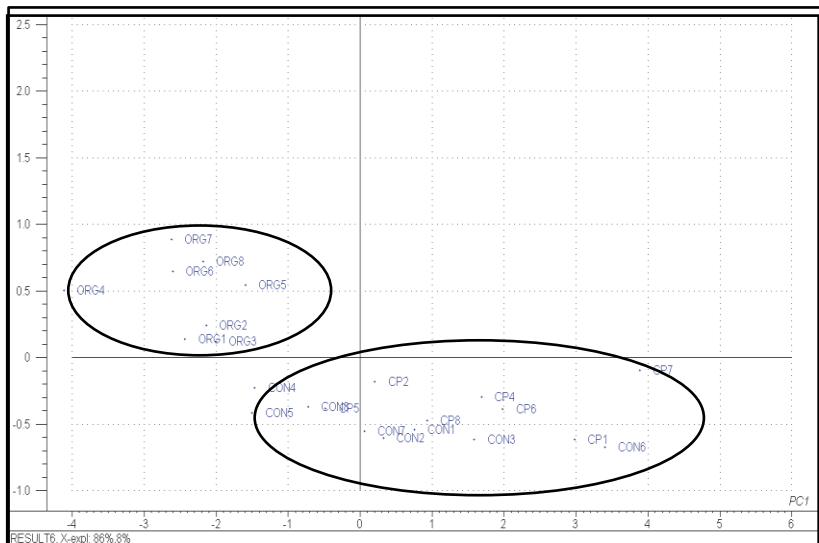


Figura 6 – Perfil espectral UV-visível (200 – 700 nm) do extrato hidroalcológico do pasto (A) e do ERPdo leite (B) de inverno.

A análise de componentes principais das amostras de inverno demonstrou uma clara separação entre os ERPs dos sistemas ORG e convencional (CON e CP). O eixo PC1 foi responsável por 86% de explicação da variação dos dados (Figura 7A). Uma maior similaridade entre as amostras CP e CON pode ser evidenciada em PC1(+), enquanto as do sistema ORG, em PC1(-). Subsequentemente procedeu-se com a análise de PCA dos extratos hidroalcológicos das pastagens, visando verificar se o mesmo padrão de similaridade obtido para os ERPs do leite era encontrado. Para os extratos bruto das amostras de pasto coletadas durante o inverno, os eixos PC1 PC2 foram responsáveis por 15 e 8% de explicação da variação dos dados (Figura 7B). Diferentemente do ERP do leite, observou-se a separação das amostras em três grupos distintos, com a maioria das amostras do tratamento CON agrupadas em PC1 (+) e PC2 (-), e a maior parte das amostras do sistema ORG agrupadas próximas à PC1 (-). Um pequeno agrupamento para todos os tratamentos foi observado próximo à PC1 (+) (Figura 7B). É importante ressaltar que a análise de PCA foi realizada utilizando-se as matrizes de correlação, portanto o padrão de agrupamento observado reflete principalmente diferenças qualitativas entre os perfis espectrais dos extratos. No cálculo através de matrizes de correlação, cada variável contribui com igual peso para a distribuição dos objetos ao longo dos eixos, diminuindo deste modo a variação na magnitude e ressaltando a composição dos resultados, ressaltando, assim, características qualitativas da composição química da amostra (LEMONS, 2010).

A



B

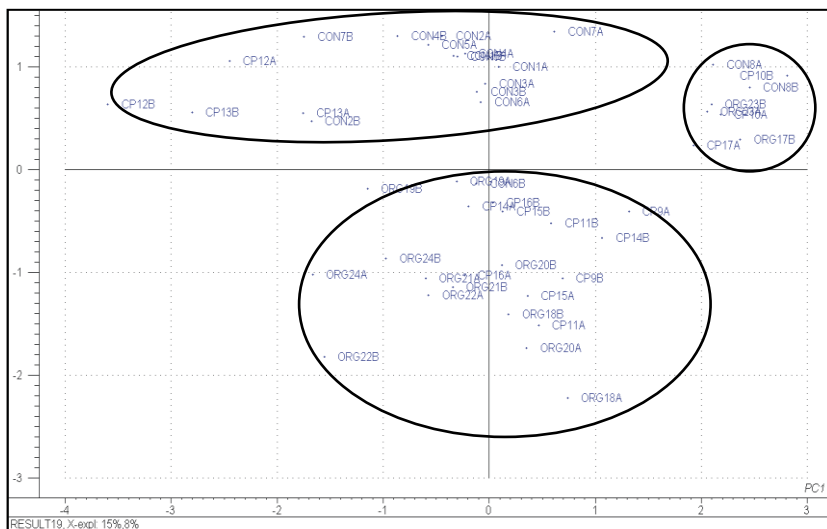
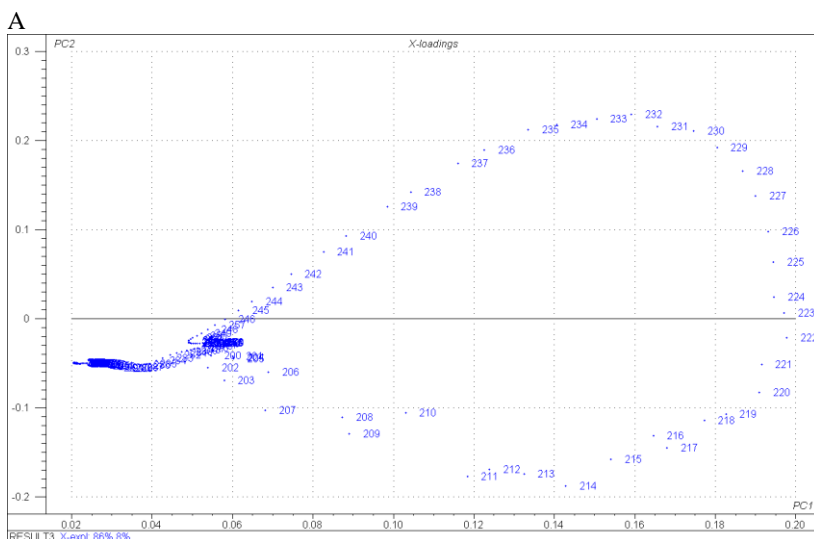


Figura 7: Distribuição fatorial de PC1 e PC2 dos dados espectrais UV-visível (200 a 350 nm) dos extratos semi-purificados ricos em polifenólicos do leite (A) e extrato bruto hidroalcolico do pasto (B), dos tratamentos CON, CP e ORG no inverno.

Posteriormente procedeu-se com a análise da contribuição diferencial das variáveis sobre os eixos, também denominada de *loading*. Cabe destacar que a posição dos autovalores encontrados é influenciada pelas variáveis originais, com algumas variáveis contribuindo de modo mais significativo do que outras. Neste caso, os *loadings* de maior influência nas amostras de ERP do leite e extrato hidroalcolico do pasto de inverno estão mostrados na Figura 8. As janelas espectrais (ηm) de maior influência para a distribuição dos autovetores na análise das matrizes de correlação no PCA do ERP do leite foram de 200 - 222 ηm em PC 2 (-) e 223- 245 para PC2 (+). Para os extratos hidroalcolicos do pasto, os comprimentos de onda na faixa espectral de 200-260 ηm em PC1(-) e 270-350 ηm PC2 (+) contribuíram para o padrão de agrupamento observado.



B

Figura 8- - Distribuição fatorial de PC1 e PC2 das espectrais UV-visível (200 a 350 nm) dos extratos semi-purificados ricos em compostos polifenólicos do leite (A) e dos extratos bruto hidroalcológicos do pasto (B), dos tratamentos CON, CP e ORG no inverno.

A mesma análise foi realizada para as amostras coletadas durante o verão. O PCA dos ERPs revelou a distinção das amostras segundo o eixo PC1, responsável por 88% da explicação da variação dos dados (Figura 9A). Pode-se verificar maior similaridade entre as amostras das UFLs agroecológicas, que localizaram-se em PC1(-), à exceção das amostras ORG3 e ORG6. O mesmo padrão de agrupamento foi observado para a maioria das amostras do tratamento CON, localizadas em PC1(+), com exceção da amostra CON3. Já os perfis dos ERPs do tratamento CP mostraram-se pouco similares, evidenciado pelo não agrupamento das amostras. Subsequentemente, procedeu-se com a análise de PCA dos extratos hidroalcológicos das pastagens. Neste caso, os eixos PC1 e PC2 foram responsáveis por 38 e 10% de explicação da variação dos dados, respectivamente (Figura 9B). Assim como para os ERPs do leite, as amostras resultaram em 2 grupos, segundo os eixos PC1 e PC2. Os extratos hidroalcológicos de um maior número de UFLs do tratamento CON agruparam-se em PC1 e PC2(+), enquanto, a maior parte das amostras do sistema ORG, localizou-se em PC1 e PC2(-). Da mesma maneira, as amostras do tratamento CP não apresentaram um agrupamento definido (Figura 9B).

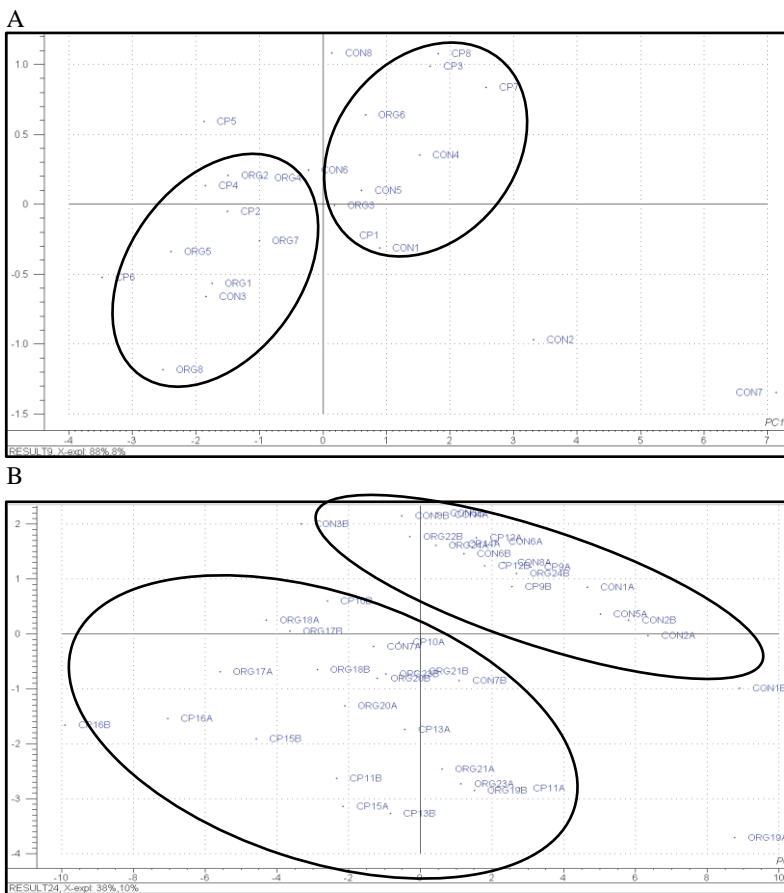


Figura 9- Distribuição fatorial de PC1 e PC2 dos dados espectrais UV-visível(200 a 350 nm) dos extratos semi-purificados ricos em compostos polifenólicos do leite (A) e dos extratos bruto hidroalcológicos do pasto (B), dos tratamentos CON, CP e ORG no verão.

Os *loading* de maior influência nas amostras de ERP do leite e extrato hidroalcológico do pasto de verão estão mostrados na Figura 10. As janelas espectrais (nm) de maior influência para a distribuição dos autovetores na análise das matrizes de correlação no PCA foram 204-228 nm para PC2 (+) e de 230-350nm para PC2 (-) do ERP do leite.

Para os extratos hidroalcolólicos do pasto, nota-se agrupamentos na faixa espectral de 200-280 nm em PC1(-) e 290-350 nm PC2 (+).

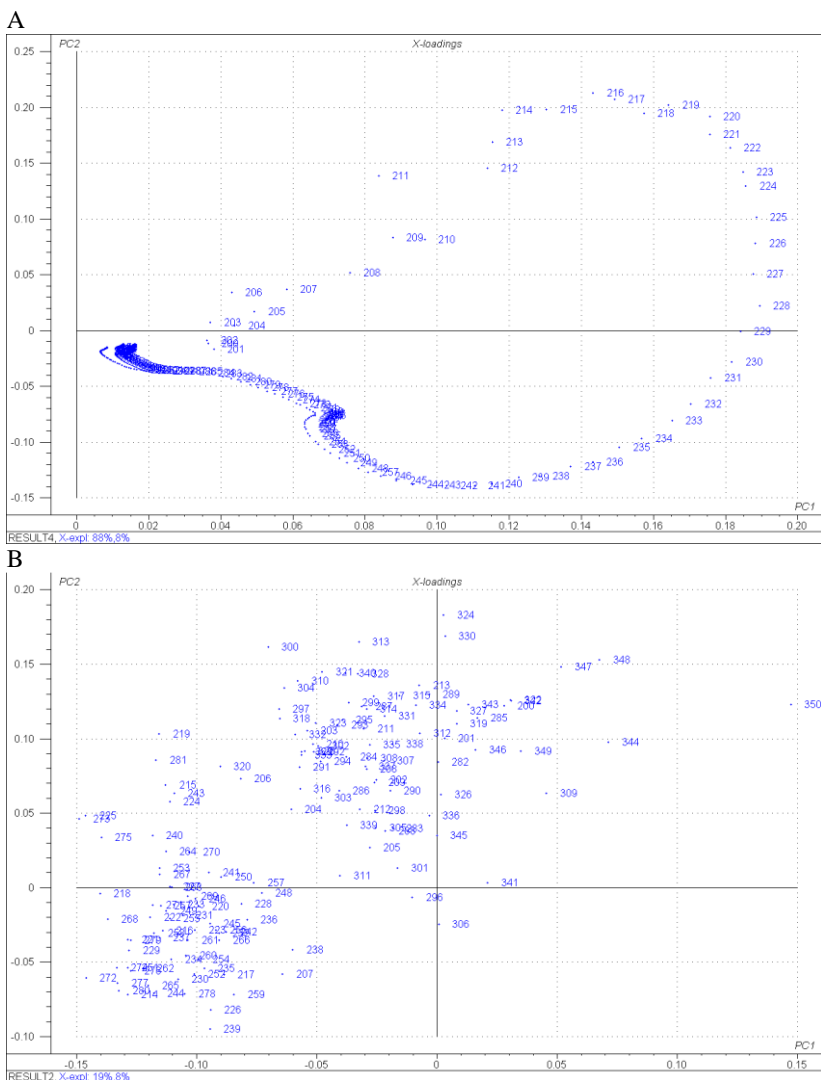


Figura 10- Distribuição fatorial de PC1 e PC2 das espectrais UV-visível (200 a 350 nm) dos extratos semi-purificados ricos em compostos polifenólicos do leite (A) e dos extratos bruto hidroalcolólicos do pasto (B), dos tratamentos CON, CP e ORG no verão.

Através da análise de PCA pode-se perceber padrões de similaridade entre as amostras de ERP do leite e extrato hidroalcolico do pasto, do inverno e verão, evidenciando uma composição de compostos polifenólicos distinta entre as amostras. Cabe destacar que não foram encontrados padrões definidos de similaridade (agrupamentos) para as amostras, tanto de leite como de pasto, coletadas no outono e primavera (dados não mostrados). Esses resultados reforçam que o leite e pasto coletados no inverno e verão teriam uma composição polifenólica distinta relacionada ao sistema de produção. Em um estudo anterior Kuhnen et al. (2011), verificaram a possibilidade de discriminação de extratos bruto de flores femininas de milho em função de sua composição química, através da aplicada análise de PCA para espectros de $^1\text{H NMR}$.

No presente trabalho, sugere-se que a distinção dos ERP do leite produzido pelos tratamentos CON e ORG, resulte da influência da composição polifenólica oriunda das pastagens. De fato, as amostras de pasto mostraram, em alguma extensão, um padrão de agrupamento similar ao encontrado para o leite. O uso desta ferramenta de análise, destinada a distinção de amostras de leite em função de sua composição polifenólica, mostra-se promissora para autenticação do leite produzido em sistema agroecológico ou produzido a pasto no oeste de Santa Catarina. Espera-se futuramente validar o uso dessa ferramenta, rápida e de menor custo, através da identificação dos compostos polifenólicos no leite e pasto via cromatografia líquida de alta eficiência.

4. CONCLUSÃO

- A correlação positiva entre polifenóis e CAT do pasto e leite, mostrou o potencial da dieta a pasto para a produção de um leite com alto teor de antioxidantes;
- A análise do pasto e leite revelou conteúdos distintos de (poli)fenóis e capacidade antioxidante total entre os tratamentos, dependente da sazonalidade;
- A distinção da composição polifenólica do leite do sistema ORG evidenciada por PCA, no verão e inverno, mostra o potencial dessa ferramenta na busca de marcadores químicos no leite bem como à produção de um leite contendo compostos de interesse à saúde humana.

REFERÊNCIAS

Al-MAMUN, M.; YAMAKI, K.; MASUMIZU, T.; et al. Superoxide Anion Radical Scavenging Activities of Herbs and Pastures in Northern Japan Determined Using Electron Spin Resonance Spectrometry. **International Journal of Biological Sciences**. v.3, n.6, p. 349-355. 2007.

ANDERSEN C.; NIELSEN T.S.; PURUP S.; et al. Phyto-oestrogens in herbage and milk from cows grazing white clover, red clover, lucerne or chicory-rich pastures. **Journal Animal**, v. 3, p. 1189-1195. 2009.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Phenolic compounds in foods – A brief review. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n.1, p. 1-9, 2007.

ARAÚJO, J.M.A. Oxidação de lipídios em alimentos. In: **Química de Alimentos**. Universidade Federal de Viçosa, p.16-122. 2008.

BALLET, N.; ROBERT, J.C.; WILLIAMS, P.E.V. Vitamins in forages. In: GIVENS, D.I; OWEN, E.; AXFORD, R.F.E.; et al. **Forage evaluation in ruminant nutrition**. CABI, Surrey, v. 19, p. 399–431.2000.

BENZIE, I. F. F. & STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical biochemistry**. Article n°. 0292. v. 239, p. 70–76, 1996.

BERGAMO, P.; FEDELE, E.; IANNIBELLI, L. et al. Soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. **Food Chemistry**, v. 82, n. 4, p. 625-631, 2003.

BESLE, J. M.; VIALA, D.; MARTIN, B.; et al. Ultraviolet-absorbing compounds in milk are related to forage polyphenols. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p.2846–2856, 2010.

BRASIL. Lei n.10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica. In: **IBD CERTIFICAÇÕES. Diretrizes e Legislação. Decreto da Lei 10.831 de Produtos Orgânicos**. Disponível em: <http://www.ibd.com.br/Downloads/DirLeg/Legislacao/05-Lei_10831_2003.pdf>. Acesso em: 13 Set. 2010.

BUTLER, G.; NIELSEN, J.H.; SLOTS, T.; et al. Fatty acid and fat-soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and organic systems: seasonal variation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.88, p.1431–1441, 2008.

CALDWELL, M.M.; ROBBEREHT, R. A steep latitudinal gradient of solar ultraviolet-B radiation in the arctic alpine life zone. **Journal of Ecology**. v. 61, p. 600-611. 1980.

CAO, G.; PRIOR, R.L. Comparason of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. **Journal Clinical Chemistry**. v. 44, p. 1309-1315. 1998.

CHEN, J.; LINDMARK-MA^oNSSON, H.; GORTON, L.; et al.. Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods. **International Dairy Journal**, v. 13, p. 927–935. 2003.

CHEYNIER V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.81, p.223-229, 2005.

COLLOMB, M.; BUTIKOFER, U.; SIEBER, R.; et al.. Correlation between fatty acids in cows' milk fat produced in the lowlands, mountains and highlands of Switzerland and botanical composition of the fodder. **International Dairy Journal**. v.12, p. 661-666.2002.

CORTES, 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.

CORREIA, A.A.D. **Bioquímica nos solos, nas pastagens e forragens**. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, 1980.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. **Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos**. 2^o ed. São Paulo: MEDSI - Editora Médica e Científica Ltda, 1992.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em:

<<http://www.cnp.gl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/>>. Acesso em: 03 de mar. 2013.

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de diferentes métodos para se estimar o valor nutritivo de forragens sob pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.21, n.4, p.691-702, 1992.
EUROPEAN COMMISSION. **Organic Farming**. Disponível em <<http://ec.europa.eu/agriculture/organic/organic-farming/>>. Acesso em: 21 de ago. 2011.

FUKUSAKI, E.; KOBAYASHI, A. Plant Metabolomics: Potential for practical operation. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 100, p. 347–354. 2005.

HARBORNE, J.B. **Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis**. Chapman and Hall. 288p 1988.

HARRIS Jr., B.; BACHAMAN, K.C. Nutritional and management factors affecting solid-non-fat, acidity and freezing point of milk. **Institute of Food and Agricultural Sciences**, v. 25, p. 1-5, 1988.

HARTLEY, R.D., JONES, E.C. Phenolic components and degradability of cell walls of grass and legume species. **Phytochemistry**, v. 16, p. 1531. 1977.

JAHREIS, G.; FRITSCH, J.; STEINHART, H. Conjugated linoleic acid in milk fat: high variation depending on production system. **Nutrition Research**, v. 17, n. 9, p. 1479-1484, 1997.

JAY, M.; LUMARET, R. Variation in the subtropical group of *Dactylis glomerata* L. 2.Evidence from phenolic compound patterns. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 23, p. 523–531. 1995.

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.

KIM, Y. K., GUO, Q., PACKER, L. Free radical scavenging activity of red ginseng aqueous extracts. **Toxicology**. v. 172, p. 149–156, 2002.
KUHNEN, S.; OGLIARI, J. B. DIAS, P. F.; et al. ATR-FTIR spectroscopy and chemometric analysis applied to discrimination of landrace

maize flours produced in southern Brazil. International. **Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p. 1673–1681. 2010.

KUHNEN, S.; OGLIARI, J. B.; DIAS, et al. Metabolic Fingerprint of Brazilian Maize Landraces Silk (Stigma/Styles) Using NMR Spectroscopy and Chemometric Methods. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.58, n.4, p. 2194–2200, 2010.

LAGUERRE, M.; LECOMTE, J.; VILLENEUVE, P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Review. **Progress in Lipid Research**, v. 46, p. 244-282, 2007.

LEMOS, P. M. M. **Determinação do metaboloma foliar parcial de variedades crioulas de milho (Zea mays), visando a caracterização dos extratos foliares contendo (poli)fenóis e carotenóides.** (Tese de Doutorado em Recursos Genéticos e Vegetais) – Universidade Federal de Santa Catarina, 220 p. Florianópolis, Santa Catarina. 2010.

LEARDI, R. Chemometrics in data analysis. In: NAES, T; ISAKSSON, T; FEARN, T; DAVIES, T A. **user-friendly guide to multivariate calibration and classification.** NIR Publications, West Sussex. .2003.
LINDMARK-MANSSON, H.; AKESSON, B. Antioxidative factors in milk. **British Journal of Nutrition.** v. 84, p. 103 – 110, 2000.
MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, p.727-747, 2004.

MARASCHIN, M.; KUHNEN, S.; LEMOS, P. M.M.; et al. Metabolomics and Chemometrics as Tools for Chemo(bio)diversity Analysis - Maize Landraces and Propolis. **Chemometrics in Practical Applications.** 2012.

MARINO, V. M.; SCHADT, I.; LA TERRA, S.; et al. Influence of season and pasture feeding on the content of α -tocopherol and β -carotene in milk from Holstein, Brown Swiss and Modicana cows in Sicily. **Dairy Science. & Technology**, 2012.

MARTIN B.; CORNU A.; KONDOYAN N.; et al. Milk indicators for recognizing the types of forages eaten by dairy cows, In:

HOCQUETTE, J.F.; GIGLI, S. **Indicators of milk and beef quality**, p. 127–136. 2005.

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.

NACZK, M. & SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics. **Food.Journal Chromatografy**. v.1054, n.1/2, p. 95-111. 2004.

O'CONNELLI, 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.

OLESZEK, W.; STOCHMAL, A.; JANDA, B. Concentration of Isoflavones and Other Phenolics in the Aerial Parts of *Trifolium* Species.

Journal Agriculture and Food Chemistry, v.55, p. 8095–8100. 2007.

PETIT, H.V.; CORTES, 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.

PIMENTEL, C.V.M.B.; FRANCKI, V.M.; GOLLÜCKE, A.P.B. **Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Varela. 2005.

PRANDINI, A.; SIGOLO, S.; TANSINI, G.; et al. Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy products from Italy. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 6, p. 472-479, 2007.

REALINI, C.E.; DUCKETT, S.K.; BRITO, G.W.; et al. Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. **Meat Science**, v. 66, p. 567-577, 2004.

REYNOSO, C.R.; MORA, O.; NIEVES, V.; et al. β -Carotene and lutein in forage and bovine adipose tissue in two tropical regions of Mexico. **Animal Feed Science and Technology**, v. 113, p.183–190. 2004.

RHODES, M. J. C. Physiological roles for secondary metabolites in plants: some progress may outstanding problems. **Plant. Molecular Biology**, v. 24, p. 1 -20, 1994.

SANTOS, N. W.; SANTOS, G. T. & KAZAMA, D. C. S. **Silagem de Resíduo de Uva como fonte de antioxidante em Dietas com Óleo de Soja para Vacas Leiteira.** (Dissertação de Mestrado) Universidade Estadual do Paraná. Centro de Ciências Agrárias, 2011.

SIES, H., STAHL, W. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.62, n.6, p.1315-1321, 1995.

SIMÕES, C.; OLIVEIRA, M. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 1. ed. Florianópolis: UFSC, 1999.

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.; BUTLER, G.; LEIFERT, C.; et al. Potentials to differentiate milk composition by different feeding strategies. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 2057–2066, 2009.

STIBUSKI, R. B.; MACHADO FILHO, L.C.P.; KUNHEN, S. **Avaliação da qualidade do leite produzido sob diferentes sistemas de produção no oeste de Santa Catarina.** (Dissertação de Mestrado em Agroecossistemas) Universidade Federal de Santa Catarina. 2013.

TAKAHASHI, Y.; FUJII, Y.; UOZUMI, S.; et al. Studies on allelopathic interactions among some grassland species. III. Isolation and identification of phenolic compounds in the shoot of *Lolium perenne* L. **Journal of Japanese Society of Grassland Science**, v. 38:, p. 226–233. 1992.

CONCLUSÕES FINAIS

- O perfil de ácidos graxos e as porcentagens de CLA e AV no leite foram influenciados pelo manejo utilizado, sendo sugeridos como potenciais marcadores químicos para a autenticidade do leite produzido pela pecuária sustentável;
- Os perfis carotenóidico e de vitamina A no leite não foram afetados pelo manejo utilizado nos diferentes sistemas de produção,
- Os teores de (poli)fenóis totais e CAT encontrados no leite, apresentaram diferenças entre os sistemas de manejo, dependente da sazonalidade;
- Os resultados reforçam a importância de uma dieta a base de pasto à produção de um leite contendo compostos benéficos à saúde humana.

PERPECTIVAS

- Determinar a composição polifenólica do leite agroecológico comparado ao convencional, a fim de se evidenciar a existência de um ou mais compostos que poderiam ser utilizados como marcadores químicos da pecuária sustentável;
- A caracterização do leite produzido em outras regiões do Brasil utilizando os mesmos marcadores (CLA, AV, carotenoides e composição polifenólica), poderiam futuramente, servir como subsídio para uma possível solicitação de Indicação Geográfica do leite produzido na região oeste de Santa Catarina.

APÊNDICE A

Composição de ácidos graxos no leite produzido nos municípios de São Domingos e Novo Horizonte em sistemas convencional – CON, convencional a base de pasto–CP e Agroecológico-ORG.

Parâmetros	Sistemas de Produção			
	CON	CP	ORG	P
Ac. graxos (%)				
C4:0	11,48 (1,39)	9,69 (1,43)	9,34 (1,39)	0,520
C6:0	9,06 (0,81)	7,11 (0,84)	7,74 (0,81)	0,253
C8:0	6,69 (0,70)	4,74 (0,72)	5,50 (0,07)	0,162
C10:0	17,27 (1,59)	12,15 (1,63)	14,39 (1,59)	0,102
C13:0	0,73 (0,09)	0,57 (0,09)	0,55 (0,09)	0,331
C14:0	89,66 (7,11)	71,45 (7,43)	73,91 (7,11)	0,166
C15:0	9,04 (0,68)	7,79 (0,70)	8,98 (0,68)	0,363
C17:0	5,70 (0,46)	4,75 (0,48)	5,74 (0,49)	0,258
C17:1 c10	2,19 (0,23)	1,83 (0,24)	2,07 (0,23)	0,539
C18:1 t9	5,53 (1,46)	6,20 (1,47)	3,76 (1,46)	0,386
C18:1 c9	28,88 (3,76)	27,61 (3,85)	38,89 (3,76)	0,087
C20:1 c11	1,84 (0,13)	0,75 (0,13)	1,07 (0,13)	0,359
C21:0	5,30 (1,63)	7,50 (1,64)	7,20 (1,63)	0,591
C20:2 c11;14	0,30 (0,07)	0,43 (0,07)	0,30 (0,07)	0,349
C20:3 c8,11,14	0,53 (0,08)	0,37 (0,08)	0,42 (0,08)	0,316
C23:0	0,73 (0,08)	0,52 (0,08)	0,52 (0,08)	0,122
20:5 c5;8;11;14;17	0,24 (0,06)	0,29 (0,06)	0,35 (0,06)	0,421
*N.I	7,15	8,81	7,71	

Os valores apresentados representam a média de duas extrações independentes. Os valores entre parênteses representam o erro padrão da média. * Não identificados.