RAFAEL VILLELA BARLETTA

Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras

Pirassununga

2010

RAFAEL VILLELA BARLETTA

Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de Concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Francisco Palma Rennó

Pirassununga

2010

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2372
FMVZ

Barletta, Rafael Villela

Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras / Rafael Villela
Barletta. -- 2010.

96 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal,
Pirassununga, 2010.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.
Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Palma Rennó.

1. Vacas leiteiras. 2. Grão de soja integral. 3. Produção e composição do leite.
4. Digestibilidade. 5. Parâmetros sanguíneos. I. Título.

ERRATA

BARLETTA, R. V. Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras. 2010. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

Página	Parágrafo	Linha	Onde se lê	Leia-se
Ficha catalográfica	4º	1ª	96 f.	95 f.
Resumo	1º	2ª	96 f.	95 f.
Abstract	1º	2ª	96 f.	95 f.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Utilização de grão de soja em rações de vacas em lactação", protocolado sob o nº 1596/2009, utilizando 12 (doze) bovinos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Francisco Palma Rennó, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 18 de março de 2009.

We certify that the Research "Use of whole soybean in dairy cows rations", protocol number 1596/2009, utilizing 12 (twelve) bovines, under the responsibility Prof. Dr. Francisco Palma Rennó, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 03/18/09.

São Paulo, 20 de março de 2009

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: BARLETTA, Rafael Villela

Título: Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Dedico este trabalho a algumas pessoas, que foram com certeza as mais importantes e essenciais na minha vida, que são meu pai Nelson (in memoriam) que sempre vai estar no meu coração caminhando comigo, meu exemplo de vida e dignidade e a minha mãe Jane e a tia Lena, que foram e serão para sempre meus grandes exemplos, que sempre me amaram e me apoiaram incondicionalmente e que muitas vezes sacrificaram seus próprios sonhos para realizarem os meus, em especial a minha mãe, esta mulher de fibra, que enfrentou junto comigo todas as dificuldades, obstáculos até que este dia chegasse. MÃE NÓS VENCEMOS

E ESTA VITÓRIA É SUA!!!!

Aos meus irmãos Thiago e Gabriel, que sempre estiveram do meu lado, me incentivando e me dando força e me apoiando durante todos estes anos. AMO VOCÊS!!!!

Também dedico aos meus avós Flávio, Célia, Diná e José (in memoriam) e aos meus tios Gordo, Marcelo, Flavio, Letícia que sempre me ensinaram os valores fundamentais da vida e sempre me incentivaram a buscar uma boa formação. VOCÊS SÃO MUITO IMPORTANTES

PRA MIM!!!!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado saúde, força, determinação, sabedoria, condição e dedicação, para alcançar meus objetivos e cumprir mais esta etapa na minha vida.

Ao meu orientador e amigo Prof. Francisco Palma Rennó pela orientação segura, por compartilhar sem restrições seu conhecimento e experiência e que sem medir esforços, sempre esteve à prontidão, para esclarecer qual fosse minhas dúvidas. Obrigado ainda por sua competência, seu profissionalismo, sua dedicação, sua sabedoria, sem contar o companheirismo, a paciência e a atenção, acima de tudo pela amizade e incentivo. Foi muito gratificante poder realizar este trabalho com você, pois sem duvida, contribuiu significativamente em meus conhecimentos e em minha vida.

Aos meus professores e eternos amigos de São João da Boa Vista que sempre me apoiaram e colocaram para frente, em especial a Priscila, Kal, Lúcia, Denílson e Tiago Carnero que me colocaram no caminho do conhecimento.

A todos os meus amigos de Carmo de Minas, que entendem o motivo da minha distância, mas não menor consideração, em especial Juninho da Barra, Batata, Paulinho (peida-fogo), Soró e Tina, Larissa obrigado pela grande amizade e suporte em diversas fases desta jornada.

À Universidade de São Paulo, a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, e ao Departamento de Nutrição e Produção Animal pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo, que gerou tranquilidade e possibilitou a dedicação intensa e exclusiva a este trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela concessão de auxílio à pesquisa que possibilitou a realização deste estudo;

Aos meus primos Saulo, Juca Bala, Caio, André, Marcelo, Boi, Paulinho, Dani, Babi, Gabi, Flavia e Tainá que sempre se colocaram a disposição quando necessitei de ajuda, não medindo qual fossem os esforços.

Aos meus familiares, tio Toninho, Sérgio, Luizão, Viviu, Delmar e Léo e minhas tias Magali, Kátia, Lê, Lú, Angela, Inês, Beto e minha madrinha Aparecida por estarem presentes na minha vida como meus segundos pais, me amando e me apoiando sempre. Vocês são importantíssimos pra mim.

Aos colegas de mestrado Jefferson (Fronfrom), Milton (Bolinho de chuva), Leonardo (a lenda), José Esler, Anaí, Lenita, Beatriz, Maiara, Ana, Gustavo, Rodrigo aos estudantes de Iniciação Científica Eduardo (pernilongo), Rodolfo (bada), Thiago (catimbó), Renata (alemão), Rodrigo (pira) e aos estagiários Alexandre, Cícero, Paulo e Raquel pela imprescindível, incontestável, e essencial ajuda em todas as etapas para conclusão deste trabalho; em especial Anaí e Jefferson que de forma incessante, contribuíram ativamente para realização do experimento, obrigado pela grande amizade e paciência.

Aos amigos da pós-graduação Erika (e família), Rodrigo (tenente), Samuel, Diego, Octávio, Felipe Horta, Yara, Rosana, Fernando (Boi), Marco Aurélio, Carol Malek, Paula, Julianne Naves, Henry, Iaçanã, Juliana Barreiro, Larissa, Esther, Daniela Geronimo, Henrique, Elmeson, Bruno Botaro, Cristina, Marina, Maria Fernanda, Fernandinha, Francini, Naiara, Rafael, Rinaldo, Frodo, Chibungu, Caio, Novilha, Lara, Marina, Perna, Pedro, Joãozinho, Chico, Cupim, Marília, Tarley, Reno, Cabra, Zé Rodrigo, Paulo Gil, João Guilherme (Pé de Pano) . Espero não ter esquecido ninguém.

Aos companheiros de quarto (A7), Elmeson e Max Vicente (Angolano Loko), e a minha grande amiga Ju Diniz, obrigado pela convivência e grande amizade, e pela imprescindível ajuda na confecção deste trabalho.

Gostaria de agradecer também a Benigna, Nara e a Lenita que são muito importantes pra mim, e que sempre estiveram do meu lado me apoiando e me dando força e que contribuíram muito para que este trabalho se concretiza-se, e que com certeza vão sempre fazer parte da minha vida.

Aos professores do departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP Luis Felipe, Paulo Mazza, Marcos Veiga, Alexandre Gobesso, Ricardo Albuquerque, Angélica Pereira por todos os ensinamentos e pelo convívio.

Aos professores de Reprodução Animal, em especial o Prof. Rubens, pelos ensinamentos, suporte, atenção e pela grande amizade.

Aos professores da FZEA, Julio Cesar Balieiro, Arlindo Saran Neto (minhoca), Marcus Antonio Zanetti e ao Jovem Pesquisador Flávio Garcia Vilela obrigado pela amizade e apoio.

Ao Dr. Fernando Schalch e Ubiraem, Médicos Veterinários da PCAPS e do Hovet, pelo auxílio durante a condução do experimento.

Ao Sr. Antônio Carlos Bueno da Silva (Carlinhos) funcionário responsável do Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite e João (J), pela imprescindível ajuda na condução deste experimento.

Aos funcionários do VNP, em especial à Alessandra, ao Zeca e ao João Paulo que seguraram nossos rojões, muito obrigado.

Ao Sr. Ari Luiz de Castro, Sr. Gilson Luiz Alves de Godoy, Sr^a. Simi Luiza Durante Aflalo Robassini e Sr. Everson funcionários do Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP, pelo imprescindível auxílio na realização das análises laboratoriais.

À Sra. Lucinéia Mestieri e Sr. José Franchini Garcia Moreno, funcionários do Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP, pelo imprescindível auxílio na realização das análises laboratoriais.

Aos funcionários do Setor de Bovinocultura de Leite da Prefeitura do Campus Administrativo de Pirassununga – PCAPS, Srs. José Antônio Coelho, Antônio Carlos Baladore, Edilson José da Silva, João Paulo Pagotti, José Antônio da Costa, José Antônio da Silva, Luis Tadeu de Oliveira e Valmir Donizetti Botteon, obrigado pela atenção dispensada.

Aos funcionários da Fabrica de Ração da PCAPS, Srs. Cláudio de Jesus Aparecido São Romão, Israel Andrietta e José Luiz Aparecido Landgraf, agradeço a atenção dispensada.

Aos demais funcionários da Prefeitura do Campus Administrativo de Pirassununga – PCAPS, Ismael, Paulinho e Vagnão, Tânia e Edil obrigado pela grande amizade.

À todos os estagiários que me auxiliaram na realização deste trabalho, em especial a 74^a Turma da FMVZ-USP, especialmente Débora (Porca), Paola (Soka), Renata Leite(Yacult), e aos amigos da 72^a Turma da FMVZ-USP, Rui e Xacrete, que de alguma forma, contribuíram ativamente para realização do experimento.

**Hoje me sinto mais forte, mais feliz, quem sabe,
Só levo a certeza de que muito pouco sei, ou nada sei
Cada um de nós compõe a sua história,
Cada ser em si carrega o dom de ser capaz e ser feliz.**

(Almir Sater e Renato Teixeira)

RESUMO

BARLETTA, R. V. **Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras.** [Whole and raw soybean in feeding of dairy cows]. 2010. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes níveis de inclusão de grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras em início de lactação, e seus efeitos sobre o consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes, fermentação ruminal, síntese de proteína microbiana, produção e composição do leite, perfil de ácidos graxos da gordura do leite, concentrações de parâmetros sanguíneos, balanço de energia e nitrogênio, excreção e composição do grão de soja presente nas fezes e desempenho produtivo. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa, agrupadas em três quadrados latinos balanceados e contemporâneos 4x4, alimentadas com as seguintes rações: 1) Controle (C), composto por ração sem a inclusão de grão de soja; 2) Grão de soja integral 8% (G8), 3) Grão de soja integral 16% (G16), e 4) Grão de soja integral 24% (G24), com a utilização respectivamente, de 8,0, 16,0 e 24% de grão de soja cru e integral na ração, na matéria seca. A produção de leite e o consumo de matéria seca foram mensurados diariamente durante todo o período experimental. As amostras utilizadas para análise da composição do leite foram coletadas no 16º dia de cada período experimental, sendo provenientes das duas ordenhas diárias. As amostras de sangue foram coletadas em tubos vacuolizados por punção da veia e/ou artéria coccígea. As amostras de líquido ruminal foram coletadas com a utilização de sonda esofágica três horas após a alimentação matinal. A digestibilidade foi determinada por meio de indicador interno FDAi. Houve redução no consumo de matéria seca e de carboidratos não fibrosos nas vacas suplementadas com a ração G24 em relação às demais rações, que não diferiram entre si. Foi observado efeito linear crescente no consumo de extrato etéreo, onde os animais submetidos à dieta G24 apresentaram maiores valores. Houve diferença na digestibilidade aparente total dos nutrientes entre as rações experimentais, sendo que a dieta G24 apresentou diminuição da digestibilidade da proteína bruta, em relação às dietas C, G8 e G16. Não houve efeito das rações utilizadas nos valores de pH ruminal. A concentração de nitrogênio amoniacal ruminal foi maior ($P < 0,05$) para as vacas que receberam a dieta controle em relação às dietas com grão de soja. Entre as rações utilizadas, a ração G24 resultou em redução da produção de leite e de proteína em Kg/dia. Os teores no leite de proteína, gordura e lactose não foram alterados pelas fontes de gordura adicionadas

nas rações, da mesma maneira o perfil de ácidos graxos da gordura do leite não sofreu alterações significativas. As concentrações de colesterol total e HDL foram maiores para as vacas alimentadas com rações contendo grão de soja em relação à ração controle. As concentrações de uréia e nitrogênio uréico, no soro e no leite, foram semelhantes entre as rações utilizadas. As rações utilizadas não influenciaram a síntese de proteína microbiana. O balanço de energia não foi influenciado pelas dietas experimentais. Houve efeito das rações experimentais sobre o balanço de nitrogênio, onde a ração G16 apresentou o melhor resultado, e a excreção fecal de nitrogênio foi maior para a dieta G24. Com relação a composição das fezes a dieta G24 apresentou porcentagens maiores de proteína e extrato etéreo, e a excreção de grão de soja nas fezes mostrou efeito linear crescente, assim a medida que aumentava os níveis de inclusão aumentava a excreção do grão nas fezes. A utilização de diferentes níveis de grão de soja nas rações altera o consumo, desempenho produtivo e metabolismo de vacas em lactação, sendo o resultado dependente da fase do nível de grão de soja cru e integral adicionado as rações.

Palavras-chave: Vacas leiteiras, Grão de soja integral, Produção e composição do leite, Digestibilidade, Parâmetros sanguíneos

ABSTRACT

BARLETTA, R. V. **Whole and raw soybean in feeding of dairy cows.** [Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras]. 2010. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

This study was conducted to evaluate the effects of different levels of inclusion of crude soybean and full in feeding of dairy cows in early lactation and their effects on intake and dry matter digestibility and nutrients, rumen fermentation, microbial protein synthesis, yield and milk composition, fatty acids profile of milk fat, concentrations of blood parameters, energy and nitrogen balance, excretion and composition of soybean present in faeces and productive performance. A total of 12 holstein cows, grouped in three latin squares balanced and contemporary 4x4, fed the following diets: 1) control (C), composed of feed without the inclusion of soybean, 2) grain soybean 8% (G8), 3) grain soybean 16% (G16), and 4) grain of soybean 24% (G24), using respectively 8.0, 16.0 and 24% of whole raw soybean in the diet, in dry matter. Milk yield and dry matter intake were measured daily throughout the experimental period. The samples used for analysis of milk composition were collected on the 16th day of each period, and from the two milkings. Blood samples were collected in tubes by venipuncture vacuolated and/or coccygeal artery. Samples of rumen fluid were collected with use of gavage three hours after the morning feeding. The digestibility was determined by means of an internal indicator iADF. A reduction in dry matter intake and non-fibrous carbohydrates in cows fed the G24 ration compared to other diets, which did not differ. Increased linear effect was observed in the ether extract intake in the consumption of fat, where the animals submitted to G24 diet presented higher values. Total apparent digestibility of the nutrients between experimental diets, and the G24 diet showed decreased crude protein digestibility compared to diets C, G8 and G16. No effect of diets used in the values of rumen pH. The rumen ammonia concentration was higher ($P<0.05$) for cows that received the control diet compared to diets with soybean. Among the rations, ration G24 resulted in decreased milk yield and protein in Kg/day. The levels in milk protein, fat and lactose were not affected by fat sources added to the diet, just as the fatty acid profile of milk fat did not significantly change. The concentrations of total cholesterol and HDL were higher for cows fed diets containing soybean in relation to the control diet. The urea and urea nitrogen concentrations in serum and milk were similar between the rations. The rations did not affect microbial protein synthesis. The energy balance was not influenced by experimental diets.

There was an effect of experimental diets on nitrogen balance, where the G16 ration presented better result, and fecal nitrogen excretion was higher for G24 diet. Regarding the composition of faeces G24 diet showed larger percentages of protein and fat, and excretion of soybean in the feces showed a increasing linear effect, as well as the increased levels of inclusion of grain increased excretion in the faeces. The use of different levels of soybean in the diet alter the intake, productive performance and metabolism in dairy cows, and the results being dependent on the stage of the level of raw and integral soybean added to diets.

Key-words: Dairy Cows, Whole Soybean, Milk yield and composition, Digestibility, Blood parameters

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

AG	Ácidos Graxos
AGL	Ácidos Graxos Livres
AGPI	Ácidos Graxos Poliinsaturados
AST	Aspartato Aminotranferase
BE	Balanço de Energia
BN	Balanço de Nitrogênio
CD	Coeficiente de Digestibilidade
CED	Consumo de Energia Digestível
CEL	Consumo de Energia Líquida
CLA	Ácido Linoléico Conjugado
CMS	Consumo de Matéria Seca
CT	Carboidratos Totais
DAT	Digestibilidade Aparente Total
DP	Derivados de Purina
ED	Energia Digestível
EE	Extrato Etéreo
ELg	Energia Líquida de Ganho
ELL	Energia Líquida de Lactação
EM	Energia Metabolizável
EUA	Estados Unidos da América
FA	Fosfatase Alcalina
FDA	Fibra em Detergente Ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
FS	Farelo de Soja
GGT	Gama Glutamiltransferase
GS	Grão de Soja
GSI	Grão de Soja Integral
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
JDS	Journal of Dairy Science
MN	Matéria Natural
MO	Materia Orgânica
MPCV	Movimentação de Peso de Corpo Vazio
MS	Matéria Seca
Nmic	Nitrogênio Microbiano
N-NH ₃	Nitrogênio Amoniacal
Pabs	Purinas Absorvíveis
PB	Proteína Bruta

PDR	Proteína Degradável no Rúmen
pH	Potencial Hidrogeniônico
PLC	Produção de Leite Corrigida
PNDR	Proteína Não Degradável no Rúmen
PV	Peso Vivo
RBZ	Revista Brasileira de Zootecnia
SM	Silagem de Milho
TRM	Misturador Total de Rações

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Proporção dos ingredientes do concentrado, expressa na matéria seca (%MS).....	47
Tabela 2 -	Composição percentual dos ingredientes nas rações, expressa na matéria seca (%MS).....	47
Tabela 3 -	Composição bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais.....	48
Tabela 4 -	Composição bromatológica dos concentrados experimentais.....	48
Tabela 5 -	Composição bromatológica das rações experimentais.....	49
Tabela 6 -	Composição dos ácidos graxos dos ingredientes.....	50
Tabela 7 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) do consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes em função das rações experimentais.....	62
Tabela 8 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) da composição das fezes em função das rações experimentais.....	66
Tabela 9 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) do consumo e excreção de grão de soja e composição químico-bromatológica do grão de soja nas fezes em função das rações experimentais.....	67
Tabela 10 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) da fermentação ruminal em função das rações experimentais.....	70
Tabela 11 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) da síntese de proteína microbiana em função das rações experimentais.....	72
Tabela 12 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) da produção e composição do leite em função das rações experimentais.....	74
Tabela 13 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) para o perfil de ácidos graxos (g/100g de AG) da gordura do leite de acordo com as rações experimentais.....	77
Tabela 14 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) para o balanço de energia em função das rações experimentais.....	79
Tabela 15 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) para balanço de nitrogênio em função das rações experimentais.....	81
Tabela 16 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) dos metabólitos plasmáticos em função das rações experimentais.....	84

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	HIPÓTESE.....	22
3	OBJETIVOS	22
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	23
4.1	FONTES DE GORDURA PARA VACAS LEITEIRAS	23
4.2	GRÃO DE SOJA NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS.....	25
4.3	CONSUMO DE MATÉRIA SECA	30
4.4	DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL DOS NUTRIENTES	32
4.5	FERMENTAÇÃO RUMINAL E SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA	33
4.6	PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE	36
4.7	PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE	39
4.8	PARÂMETROS SANGUÍNEOS.....	42
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
5.1	LOCAL, INSTALAÇÕES E ANIMAIS.....	45
5.2	RAÇÕES EXPERIMENTAIS	45
5.3	ANÁLISE DE ALIMENTOS	49
5.4	DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL.....	50
5.5	EXCREÇÃO DE GRÃO DE SOJA NAS FEZES	51
5.6	BALANÇO DE ENERGIA.....	51
5.7	BALANÇO DE NITROGÊNIO.....	52
5.8	FERMENTAÇÃO RUMINAL	53
5.9	SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA	55
5.10	PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE	56
5.11	PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE	57
5.12	PARÂMETROS SANGUÍNEOS.....	57
5.13	AVALIAÇÃO DO SCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL E PESO CORPORAL...58	
5.14	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	58
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
6.1	CONSUMO E DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL	60

6.2	GRÃO DE SOJA NAS FEZES	64
6.3	FERMENTAÇÃO RUMINAL	67
6.4	SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA	70
6.5	PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE	72
6.6	PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NO LEITE	74
6.7	BALANÇO DE ENERGIA	77
6.8	BALANÇO DE NITROGÊNIO	79
6.9	PARÂMETROS SANGUÍNEOS	81
7	CONCLUSÕES	84
	REFERÊNCIAS	85

1 INTRODUÇÃO

A utilização de alimentos alternativos na alimentação de bovinos não é uma prática recente, mas nos últimos anos, face à grande oscilação nos preços das commodities agrícolas, como o milho e o farelo de soja, o interesse por estes alimentos nas rações de ruminantes tem crescido consideravelmente.

Normalmente, estes alimentos entram nas rações em substituição a alimentos tradicionais (como farelo de soja e de milho). No entanto, qualquer que seja o motivo da utilização, o principal fator considerado na avaliação é uma possível vantagem econômica, seja por uma redução direta no custo de alimentação, ou por um melhor desempenho animal, resultante de melhor eficiência alimentar.

Porém, esta avaliação nem sempre é simples, vários componentes do custo devem ser considerados como logística, transporte, descarga e armazenamento, composição nutricional, além do resultado que se espera com o produto em questão.

Outra possível vantagem é uma maior flexibilidade de formulação das rações, pela disponibilidade de uma maior diversidade de alimentos, além disso, alguns produtos podem conter ingredientes especiais complementares aos já existentes, que proporcionam um ajuste fino da ração, possibilitando melhor desempenho dos animais.

Uma terceira vantagem refere-se a utilização de alimentos que dispensem qualquer tipo de processamento (como a moagem e a tostagem), pois já são comercializados na forma adequada de uso, o que representa uma economia de mão de obra e energia.

Entre as diferentes fontes de proteína e gordura disponíveis para serem utilizadas na alimentação de ruminantes no Brasil, o grão de soja se destaca pela grande disponibilidade e custo compatível com seu rico conteúdo de nutrientes. Atualmente segundo dados do AGRIANUAL (2009), o Brasil é o segundo produtor mundial de soja, com 68,5 milhões de toneladas produzidas na safra 2009/2010, perfazendo aproximadamente 23 milhões de hectares cultivados.

Além disto, se forem analisadas as regiões do país onde a soja é cultivada, existe expressiva cultura de soja, em regiões onde estão localizadas as maiores bacias leiteiras do Brasil, especialmente nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Goiás, tornando a utilização do grão de soja na alimentação animal possível nas principais regiões produtoras de leite do país (RENNÓ et al., 2009).

A utilização de grão de soja cru ou não processado na alimentação de ruminantes não é recente. Por apresentar composição de aproximadamente 39,3% de proteína bruta, 19,2% de extrato etéreo e 95% de NDT, o grão de soja tem sido utilizado na alimentação de ruminantes com o propósito de ser fonte de proteína, especialmente pela alta concentração e adequado valor biológico deste nutriente, e por também apresentar uma fibra de alta digestibilidade, e com efetividade mediana quando comparado com forragens, mas superior a de outros alimentos concentrados (NRC, 2001; VALADARES FILHO; MAGALHÃES; ROCHA JÚNIOR, 2006). Também, pelo elevado teor de extrato etéreo, pode ser considerado alimento fonte de gordura para ruminantes. O grão de soja também se destaca pelo elevado valor de ácidos graxos insaturados e pela grande aceitação pelos animais.

A utilização de fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras é feita durante a lactação por aumentar a densidade energética da ração sem reduzir o conteúdo de fibras e, assim, aumentar a ingestão de energia e produção de leite. Entre as vantagens de utilização de grão de soja integral como fonte de gordura pode ser citada a lenta liberação de lipídeos no rúmen, não superando assim a capacidade de hidrogenação dos microorganismos ruminais, impedindo possível perda da digestibilidade da fibra pelo efeito negativo que gorduras insaturadas prontamente disponíveis no rúmen podem causar as bactérias fibrolíticas. Isso ocorre em semente de oleaginosas porque a maioria dos lipídeos encontra-se no germe ou presos a matriz protéica e, portanto, há necessidade de degradação da parede celular para que a hidrólise se inicie (COPPOCK; WILKS, 1991; PALMQUIST, 1991).

No entanto, a utilização de grão de soja integral cru na alimentação de ruminantes tem sido evitada devido a possível presença de substâncias tóxicas, estimulatórias ou inibitórias, incluindo fatores alergênicos e anticoagulantes. Porém, a maior parte destas substâncias não apresenta problemas, sendo desativadas ou metabolizadas durante o processo de digestão, sendo a maior preocupação a presença de fatores que inibam a atividade da tripsina ou quimiotripsina. A presença destes fatores poderia apresentar um potencial de reduzir a digestibilidade da proteína da dieta e aumentar a excreção de nitrogênio (Mc DONALD et al., 2002).

Muitos estudos têm sido realizados com o propósito de utilização do grão de soja na alimentação de vacas leiteiras como fonte de proteína, especialmente avaliando métodos de processamento, que modifiquem a taxa de degradação da proteína no rúmen. O grão de soja cru não vem sendo utilizado em função da alta taxa de degradação da proteína no rúmen, sendo realizados tratamentos térmicos anteriormente a utilização, pois a alta quantidade de proteína degradável no rúmen (PDR) pode ser convertida em proteína não degradável no

rúmen (PNDR), entretanto, estes processos podem promover rompimento celular, levando assim a uma liberação do óleo contido no grão.

A utilização de grão de soja tostado ou extrusado na alimentação de vacas leiteiras tem por objetivo fornecer maior quantidade de PNDR, sendo esta situação adequada para países de nível de produção de leite mais elevadas como nos Estados Unidos (EUA). Quando são formuladas rações para vacas de alta produção (>40 Kg/dia) e no início de lactação, é recomendado aumentar a proporção da proteína bruta dietética oriunda da PNDR, sendo normalmente alterado de 25-30% para aproximadamente 35-45% da PB (NRC, 2001).

Porém, para a maioria dos sistemas de produção de leite no Brasil, as situações onde se torna necessário aumentar a proporção da PB em PNDR são reduzidas, em função do nível de produção de leite das vacas destes sistemas. Assim é possível que o grão de soja seja utilizado não somente como fonte de proteína em ração para vacas leiteiras, substituindo o farelo de soja, mas também como eventual substituto do fubá de milho, utilizando o grão de soja in natura nas rações como substituto destes alimentos.

O potencial de utilização do grão de soja cru em rações de vacas leiteiras ainda não foi explorado adequadamente em função da preocupação com a qualidade da proteína, de alta degradabilidade, a da presença de fatores antinutricionais, que teriam o potencial de reduzir o aproveitamento dos nutrientes. Apesar de a preocupação existir, não esta claro na literatura à partir de que nível nas rações a presença do grão de soja cru poderia influenciar a eficiência de utilização do nitrogênio ou o aproveitamento de nutrientes dietéticos. De forma semelhante não se tem o conhecimento do nível adequado de utilização do grão de soja cru nas rações de vacas em lactação.

Desta forma, a realização do presente estudo vai ao encontro da necessidade de se ter mais informações a respeito da utilização do grão de soja cru e integral, em condições semelhantes as encontradas nas fazendas brasileiras, a fim de contribuir com informações que possam ser úteis na tomada de decisão pelos produtores de leite.

2 HIPÓTESE

A hipótese a ser avaliada neste trabalho é a de que a utilização do grão de soja cru e integral em rações de vacas em lactação não influencia negativamente o metabolismo, balanço de energia e nitrogênio e desempenho produtivo.

3 OBJETIVOS

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes níveis de inclusão de grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras em início de lactação sobre o consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes, fermentação ruminal, síntese de proteína microbiana, produção e composição do leite, perfil de ácidos graxos no leite, concentrações de parâmetros sanguíneos, balanço de energia e nitrogênio e excreção e composição do grão de soja presente nas fezes.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 FONTES DE GORDURA PARA VACAS LEITEIRAS

O termo gordura consiste em definição genérica usada para compostos que possuem ácidos graxos de cadeia longa. Ácidos graxos são definidos como compostos que possuem cadeia longa de hidrocarbonetos e estrutura terminal com grupo carboxila, sendo que tais substâncias podem ser encontradas em grandes quantidades em sistema biológicas, raramente na forma livre, sendo tipicamente encontradas ligadas a molécula de glicerol ou outras estruturas que se ligam ao carbono terminal (LEHNINGER, 2005).

A maioria dos ácidos graxos encontrados na natureza tem número de carbonos que comumente varia de 14 a 24, sendo classificados como saturados (todos os carbonos com ligações simples), ou insaturados (com uma ou mais ligações duplas entre átomos de carbono). Se os ácidos graxos têm única ligação dupla, este pode ser classificado como monoinsaturado, e se este tem uma ou mais ligações duplas, é classificado como poliinsaturado (LEHNINGER, 2005).

O valor da gordura como combustível fisiológico é de 9,0 Mcal/Kg, equivalente a cerca de 2,25 a energia de carboidratos e da proteína, mas isso desde que seja absorvida e fique a disposição para ser metabolizada (energia metabolizável). Portanto, varia em função da digestibilidade de cada fonte de gordura.

De forma geral, a suplementação de gordura nas rações de ruminantes tem as seguintes vantagens: disponibilidade comercial de fontes de boa qualidade; aumento da ingestão de energia quando a ingestão de matéria seca é reduzida (aumento da eficiência do uso de energia); aumento da eficiência do uso de energia em decorrência de menor incremento calórico; aumento parcial da eficiência da produção de leite pela incorporação direta da gordura da dieta na gordura do leite; substituição de carboidratos rapidamente fermentáveis visando à otimização de consumo de forragem e fermentação ruminal (participação de nutrientes para a secreção do leite); aumento da flexibilidade para o preparo da ração; utilizados para modificação da composição da gordura do leite ou de tecidos para aceitação pelo consumidor e aumento da absorção de nutrientes solúveis (NRC 2001; PALMQUIST; MATTOS, 2006).

A utilização de fontes de gordura suplementar tem sido prática comum na alimentação de vacas em lactação, especialmente por permitir maior aporte de energia para a síntese de leite e de seus componentes, melhorando o *status* energético dos animais durante mudanças fisiológicas onde há alta exigência de energia (STAPLES; THATCHER; MATTOS, 2001). As fontes de gordura utilizadas nas rações de vacas leiteiras incluem: óleos, sementes de oleaginosas *in natura* ou extrusadas, gorduras amarela, gordura amarela hidrogenada, sebo, sebo parcialmente hidrogenado, sebo peletizado, ácidos graxos peletizados e sais de cálcio de ácidos graxos. Estas fontes variam em características físicas e químicas que afetam a sua digestibilidade, bem como os efeitos associados sobre o consumo de matéria seca (ALLEN, 2000). As fontes de gordura mais comuns utilizadas em rebanhos leiteiros possuem variação no número de carbonos dos ácidos graxos sendo de 16 a 18, variando também o grau de saturação e de esterificação. É preciso enfatizar que o fornecimento de sebo bovino está permanentemente proibido no Brasil.

Embora se apresente como alternativa viável nas rações de ruminantes como fonte de energia, é preciso considerar que para vacas em lactação o uso de gordura pode promover variáveis respostas na produção e composição do leite, sendo que a resposta à suplementação depende da dieta basal fornecida (especialmente o volumoso), estágio de lactação, balanço energético e composição e quantidade da fonte de gordura utilizada (ONETTI; GRUMMER, 2004). Além disso, ácidos graxos aproveitados no rúmen podem ter efeitos associativos sobre a digestão de nutrientes. De acordo com o NRC (2001), mudanças no consumo de matéria seca, teor de gordura do leite e digestibilidade de fibra, são indicativos de que a fermentação ruminal foi alterada durante o fornecimento de gordura nas rações.

O aumento do consumo de energia proporcionado pelo uso de fontes de gordura, e adequada quantidade de carboidratos não fibrosos nas rações podem evitar problemas metabólicos, perda excessiva de peso, baixa eficiência reprodutiva e baixo desempenho produtivo em vacas leiteiras (GRUMMER; HATFIELD; DENTINE, 1990). Certos alimentos também podem ser considerados fontes de energia de baixo custo, como óleos vegetais e sementes de oleaginosas.

Considerando os inúmeros benefícios da suplementação de gordura para vacas em lactação, alguns fatores devem ser considerados essenciais para que se tenha sucesso com a suplementação de gordura. Entre estes fatores o período de adaptação se apresenta como o principal. De acordo com Grummer, Hatfield e Dentine (1990) e Staples, Thatcher e Mattos (2001), a adaptação e a aceitabilidade das fontes de gordura durante o período de suplementação são fatores determinantes para respostas positivas no desempenho dos animais,

pois quando se avalia diferentes fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras, respostas diferentes são esperadas e muito relacionadas ao tipo e nível de inclusão do suplemento na ração. De acordo com Grummer, Hatfield e Dentine (1990) a redução na aceitabilidade das fontes de gordura podem em parte explicar redução no consumo de matéria seca e baixa produção de leite. Segundo estes mesmos autores, as diferenças na aceitabilidade de diferentes fontes de gordura podem ser minimizadas misturando os suplementos aos outros ingredientes da dieta.

Assim, as fontes de gorduras se apresentam como alternativa viável e interessante para suprir a demanda energética de ruminantes especialmente para vacas leiteiras em períodos críticos do ciclo produtivo.

4.2 GRÃO DE SOJA NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS

A utilização do grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras tem sido realizada de forma discreta e cercada de cuidados, em função de potenciais efeitos negativos no desempenho produtivo e saúde dos animais. Rennó et al (2009) analisaram com critério resultados de estudos realizados com grão de soja na alimentação de vacas leiteiras, notadamente os publicados no Journal of Dairy Science (JDS) e na Revista Brasileira de Zootecnia (RBZ), e verificaram que é possível que estes estudos seguiram determinada linha de raciocínio, por diversas vezes semelhante.

No princípio a preocupação dos pesquisadores era determinar se as fontes de gordura disponíveis tinham potencial para serem utilizadas na alimentação de ruminantes, sendo encontrados na literatura artigos publicados no JDS, especialmente entre as décadas de 30 até a década de 60. A partir da década de 60, os estudos se concentram em fontes de gordura que tinham grande disponibilidade nos EUA, como o grão de soja e o caroço de algodão, além de tentativas de prospecção de novas fontes de gordura para serem utilizadas na alimentação de ruminantes (RENNÓ et al., 2009).

Segundo Rennó et al. (2009), desde a década de 60 até o final da década de 70 foram também iniciados e publicados no JDS os estudos iniciais para o desenvolvimento de fontes de gorduras mais inertes no ambiente ruminal, como os sais de cálcio de ácidos graxos, hoje amplamente utilizados. Os mesmos autores citam que a partir da década de 70 e 80, houve grande número de estudos com fontes de gordura. Nesta fase a maioria dos estudos tinha

como objetivo a definição de formas de utilização das fontes disponíveis, incluindo diferentes níveis de inclusão na alimentação de vacas leiteiras, onde surgiram diversos estudos com grão de soja, caroço de algodão, gordura hidrogenada, sebo, óleos de origem vegetal e sais de cálcio de ácidos graxos.

Destaca-se nesta fase os estudos de Palmquist e Conrad (1978), que utilizaram vacas da raça Holandesa e Jersey e avaliaram rações contendo farelo de soja, grão de soja cru e moído e uma mistura de gordura hidrogenada em duas proporções, perfazendo cerca de 3,18, 5,93, 5,73 e 10,8% de extrato etéreo na matéria seca das rações. Os resultados demonstraram que a utilização de fontes de gordura não influenciaram a produção e composição do leite e o peso corporal, porém influenciou o consumo de matéria seca, com um menor consumo observado para a dieta contendo grão de soja. Em relação à digestibilidade aparente total (DAT) dos nutrientes, foram encontrados efeitos desejados da suplementação com fontes de gordura, especialmente na DAT do extrato etéreo e do nitrogênio.

Posteriormente, durante a década de 80 e início da década de 90 diversos estudos avaliaram fontes de gordura para ruminantes, especialmente para vacas leiteiras de média e alta produção. A partir daí então começaram os estudos com o intuito de diferentes formas de processamento das fontes de gordura disponíveis, especialmente com o grão de soja envolvendo processamento térmico com esta semente oleaginosa, sendo desenvolvida uma série de experimentos com tostagem e extrusão, com o objetivo de alterar o perfil da proteína contida no grão, especialmente a relação PDR/PNDR (RENNÓ et al., 2009). Os estudos de Mielke e Shingoethe (1981), Faldet e Satter (1991) e Scott, Combs e Grummer (1991) ilustram adequadamente este período de estudos com o grão de soja.

Mielke e Shingoethe (1981) avaliaram dietas com farelo de soja, grão de soja cru e grão de soja tostado na alimentação de vacas primíparas em início de lactação. Foi utilizada silagem de milho como maior parte do volumoso, associada a feno de alfafa. A quantidade de grão de soja consumida foi de 2,19 e 2,14 Kg/vaca/dia. Não foi observado efeito entre as dietas utilizadas no consumo de matéria seca e de proteína bruta, e na produção de leite e teor de gordura, no entanto, a dieta com farelo de soja apresentou maiores teores de proteína no leite.

De forma semelhante, Scott, Combs e Grummer (1991) avaliaram a utilização de grão de soja cru processado na alimentação de vacas leiteiras com média de 115 dias em lactação e produção de leite corrigida para 4% de gordura de 30,0 Kg de leite dia. O grão de soja avaliado foi laminado, moído, moído associado a resíduo de cervejaria seco, tostado e extrusado. As dietas formuladas forneceram em média 4,0 Kg/dia de grão de soja por vaca,

com exceção para a dieta composta por grão de soja associado a resíduo de cervejaria seco, que os animais tiveram acesso a menor quantidade de grão de soja. Não foi observada alteração na produção e composição do leite para as dietas que utilizaram grão de soja com menor nível de processamento, seja moído ou laminado, quando comparado com outras formas de processamento do grão de soja.

Scott, Combs e Grummer (1991) concluíram que se o grão de soja for utilizado como fonte de energia na alimentação de vacas leiteiras, não existe diferença entre as formas de processamento laminação, moagem, tostagem ou extrusão, especialmente para produção e composição do leite. Ainda, segundo estes autores os dados sugerem que é possível fornecer quantidades maiores de grão de soja na alimentação de vacas leiteiras em relação ao comumente recomendado, especialmente se as dietas forem fornecidas por meio de misturas completas (TRM).

Faldet e Satter (1991) avaliaram vacas em início de lactação e com média de produção de leite de 35,0 Kg/dia com o objetivo de comparar o desempenho produtivo de animais alimentados com grão de soja tostado em relação ao farelo de soja e ao grão de soja moído grosseiramente, e o volumoso utilizado foi a silagem de alfafa. Foi observado aumento da produção de leite e redução dos teores de gordura e proteína do leite quando foi comparado o desempenho de vacas alimentadas com grão de soja tostado em relação a dieta com farelo de soja ou grão de soja cru moído. No entanto, não foi encontrada diferença entre as dietas com farelo de soja ou grão de soja cru moído sobre a produção e composição do leite e consumo.

Grummer e Luck (1994) avaliaram vacas leiteiras de alta produção de leite com média 44,0 Kg e com 10 semanas de lactação. Os animais foram alimentados com silagem de alfafa (30% MS) e de milho (18%) como volumoso, sendo os 52% restantes de concentrado. O objetivo do estudo foi avaliar dietas contendo grão de soja cru moído (10% MS), grão de soja moído associado a farinha de carne e ossos (4% MS) e farinha de sangue (0,9% MS), e grão de soja tostado (9% MS). Foi observado maior produção de leite e seus componentes para as dietas com maior proporção de proteína na forma de PNDR, com desempenho inferior para a dieta com grão de soja. Não foi observada nenhuma alteração no teor de gordura e proteína do leite, bem como no consumo de matéria seca e nutrientes, com exceção para o consumo de FDN.

Os resultados de Grummer e Luck (1994) representam a maior parte de estudos encontrados na literatura que avaliaram grão de soja na alimentação de vacas de alta produção, e em início de lactação. Em função da alta exigência de nutrientes, típica de vacas nesta circunstância, aliada ao menor consumo de vacas em início de lactação, é necessária

maior atenção a qualidade e porcentagem dos nutrientes oferecidos. Assim, atenção deve ser dada para o perfil da proteína dietética, especialmente a relação PDR/PNDR, como, inclusive, preconiza o NRC (2001).

Porém, os resultados de Palmquist e Conrad (1978); Mielke e Shingoethe (1981); Faldet e Satter (1991) e Scott, Combs e Grummer (1991) demonstraram o potencial de utilização do grão de soja cru integral ou moído na alimentação de vacas leiteiras. Desta forma, Rennó et al. (2009) concluíram que não existem informações consistentes na literatura científica que demonstrem o potencial efeito negativo da utilização de grão de soja cru na alimentação de vacas leiteiras.

No entanto estes estudos foram realizados com feno de alfafa como volumoso exclusivo ou principal. Smith et al. (1993) e Allen (2000) descrevem que quando o volumoso é alterado, normalmente a resposta a suplementação com fontes de gordura tem sido diferente.

No Brasil são observadas duas diferenças importantes que devem ser consideradas para avaliar a potencial utilização de grão de soja na alimentação na maioria dos sistemas de produção de leite: 1) diferenças entre volumoso basal utilizado, notadamente silagem de milho, de sorgo, de cana de açúcar e pastagens; 2) nível de produção de leite por vaca, entre 20,0 e 35,0 Kg/dia, especialmente nos terços inicial e médio de lactação. Desta forma, é de fundamental importância avaliar o potencial de utilização de grão de soja na alimentação de vacas leiteiras em circunstâncias que se assemelham ao comumente utilizado na bovinocultura leiteira brasileira (RENNÓ et al., 2009).

Os primeiros estudos conduzidos no Brasil que avaliaram a utilização de grão de soja na alimentação de vacas leiteiras foram os trabalhos de Deresz, Fernandes e Matos (1996) e Mora, Leão e Valadares Filho (1996). No estudo de Deresz, Fernandes e Matos (1996), foram utilizadas vacas Holandesas com produção de 28,0 Kg de leite/dia, em início de lactação, as rações continham aproximadamente 0, 12 e 24% da matéria seca total de grão de soja crua, triturada grosseiramente, sendo equivalente no concentrado a 0, 20% e 40% de grão de soja. O volumoso utilizado foi a silagem de milho, e a relação volumoso/concentrado foi de 40/60. Segundo os autores, não foram observados efeitos da utilização de até 40% do concentrado de grão de soja sobre a produção e composição do leite e o consumo de matéria seca e nutrientes.

Mora, Leão e Valadares Filho (1996) avaliaram vacas de 26,0 Kg de leite/dia, após o pico de lactação, alimentadas com silagem de milho como volumoso basal. O concentrado continha 0, 15, 30 e 45% de grão de soja moído, e a relação volumoso/concentrado da dieta era de 50/50. Não foi observado efeito das dietas experimentais sobre o consumo de matéria seca e de nutrientes, com exceção do consumo de extrato etéreo, que foi maior à medida que

aumentava o nível de inclusão de grão de soja nas dietas. O consumo de grão de soja foi de 1,34, 2,73 e 3,65 Kg/dia para as dietas com 15, 30 e 45% de grão de concentrado. Também não foi observado efeito sobre produção e composição do leite.

Santos et al. (2001) incluíram grão de soja moído em 23,5% da matéria seca total em vacas 7/8 Holandês-Zebu com 30 dias de lactação, e com produção média de 20,0 Kg de leite/vaca/dia, e o volumoso utilizado foi a silagem de sorgo. Foi utilizada além da dieta com grão de soja moído a dieta controle e com óleo de soja degomado. Estes autores não verificaram efeito do grão de soja e do óleo em relação a dieta controle na produção e composição do leite.

No estudo de Duarte et al. (2005) foi avaliado diferentes fontes de gordura na alimentação de vacas da raça Jersey após o pico de lactação, com média de produção de leite de 21,0 Kg/dia. As fontes utilizadas foram grão de soja moído (15% MS), sebo (2,74% MS) e sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma (3,2% MS), além da dieta controle. As dietas continham aproximadamente 6,3% de extrato etéreo, e a dieta controle cerca de 3,6%. Como volumosos as dietas foram baseadas em silagem de milho (60%) e feno de alfafa (40%). Os autores não encontraram alteração no consumo de matéria seca e fibra, sendo observado somente maior consumo de extrato etéreo para as vacas alimentadas com fontes de gordura. As vacas submetidas a dieta com grão de soja consumiram cerca de 2,53 Kg/dia desta semente de oleaginosa. Também, não foi observado diferença entre as dietas controle, grão de soja e sais de cálcio em relação a produção e composição de leite. A dieta com sais de cálcio de ácidos graxos apresentou maior produção de leite do que as dietas controle e grão de soja.

Freitas Júnior et al. (2010) avaliaram a utilização de diferentes fontes de gordura para vacas leiteiras. Neste estudo foram avaliadas a dieta controle e três fontes de gordura, sendo mantido similar nível de extrato etéreo na matéria seca das dietas com gordura (aproximadamente 5,0%): óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos insaturados. O nível de inclusão do óleo de soja e dos sais de cálcio foi de 3%, enquanto que do grão de soja integral foi de 16% da MS, e o volumoso utilizado foi a silagem de milho na relação volumoso/concentrado de 60/40.

Freitas Júnior et al. (2010) observaram menor consumo de matéria seca para os animais submetidos às rações contendo fontes de gordura, em relação à dieta controle. O consumo de extrato etéreo, como era de se esperar, foi superior para os animais submetidos às dietas com fontes de gordura. Não houve efeito das fontes de gorduras nas rações sobre a produção de leite com e sem correção, produção de gordura, lactose e nos teores de proteína e lactose.

Analisando os estudos conduzidos no Brasil de Deresz, Fernandes e Matos (1996); Mora, Leão e Valadares Filho (1996); Santos et al. (2001); Duarte et al. (2005) e Freitas Júnior (2008), verifica-se que estes foram conduzidos com silagem de milho como volumoso exclusivo ou principal e com vacas de média produção de leite entre 20,0 e 28,0 Kg de leite/dia. Foi observado que a utilização de grão de soja promoveu resultados de produção e composição do leite, consumo de matéria seca e de nutrientes adequados, e que o nível de fornecimento de grão de soja variou entre 2,5 a 5,1 Kg/dia, sendo oferecido integral ou moído.

Estes estudos são importantes para nortear a utilização de grão de soja na alimentação de vacas leiteiras, entretanto, faltam informações relacionadas ao fornecimento de grão de soja para vacas de nível de produção de leite entre 28,0 e 35,0 Kg/dia, nos terços iniciais e médios de lactação. Animais com este nível de desempenho representam grande parcela do leite produzido no Brasil, especialmente nas regiões centro-sul do país. Ainda, é necessário expor estes animais a altos níveis de utilização do grão de soja, na forma integral ou processada fisicamente, para definir sua melhor utilização, bem como resultados adicionais incluindo DAT dos nutrientes, fermentação ruminal e síntese de proteína microbiana, perfil de ácidos graxos do leite e parâmetros sanguíneos

4.3 CONSUMO DE MATÉRIA SECA

O consumo de energia pode ser considerado o parâmetro de limitação primária sobre o desempenho produtivo de vacas leiteiras, sendo este determinado pelo conteúdo de energia líquida da dieta e pelo consumo de matéria seca (CMS). Ao aumentar-se a densidade energética da dieta com o uso de gordura é esperado um maior consumo de energia, desde que o consumo de matéria seca se mantenha ou não diminua significativamente (COPPOCK; WILKS, 1991).

Os resultados referentes ao CMS em vacas leiteiras suplementadas com fontes de gordura nas rações tem sido inconsistentes em função de vários fatores que podem estar envolvidos na diminuição do consumo. De acordo com Allen (2000), a suplementação de gordura nas rações de vacas em lactação tem proporcionado redução da digestibilidade da matéria seca e conseqüente diminuição do CMS. No entanto, é preciso considerar que quando se avalia o CMS de vacas suplementadas com fontes de gordura, uma série de parâmetros estão envolvidos, sendo os principais a digestibilidade da fração fibrosa, o tipo de volumoso

utilizado, a fonte e nível de gordura utilizado, e o estágio de lactação no qual se iniciou a suplementação de gordura (NRC, 2001; STAPLES; THATCHER; MATTOS, 2001; ONETTI; GRUMMER, 2004).

O NRC (2001) considera que mudanças no padrão de digestibilidade da fração fibrosa, alterações na fermentação ruminal e redução no teor de gordura no leite são fortes indicativos que a suplementação de gordura promoveu resposta fisiológica nos animais suplementados. Apesar de alguns estudos que utilizaram fontes adicionais de gordura para vacas leiteiras demonstrarem mudanças no padrão de fermentação ruminal, tais alterações nem sempre refletem em redução no consumo. Isso ocorre porque, segundo Allen (2000), os mecanismos pelo qual a suplementação de gordura na ração afeta o CMS ainda não está devidamente elucidado, mas há fortes evidências de que o efeito da gordura sobre a fermentação ruminal, motilidade intestinal, aceitabilidade da dieta com suplemento, liberação de hormônios intestinais, mecanismos regulatórios que controlam a ingestão de alimentos e a capacidade limitada dos ruminantes de oxidar os ácidos graxos sejam as principais razões da inibição de consumo.

Dois principais pontos devem ser destacados quando se analisa alterações no CMS em vacas suplementadas com fontes de gordura: 1) aceitabilidade do suplemento de gordura, que está diretamente relacionado às alterações no consumo de matéria seca, pois quando o período de adaptação não é suficiente para os animais, as respostas à suplementação podem não representar a realidade; 2) tipo e nível de suplementação de gordura utilizado, pois respostas diferentes são observadas de acordo com as características químicas e físicas da gordura utilizada.

Dhiman e Sater (1997) avaliaram o consumo de matéria seca do grão de soja integral e o grão de soja tostado em vacas leiteiras em lactação com média de 36,0 Kg/dia e 150 dias de lactação. Estes autores não verificaram diferenças no consumo de matéria seca entre o grão de soja integral e o grão de soja tostado. Também é preciso enfatizar que a redução do tamanho de partícula do grão de soja cru pode aumentar a superfície de exposição do grão aos microrganismos para o processo de degradação.

Vargas et al. (2002) avaliaram o consumo de matéria seca de vacas mestiças Holandês-Zebu e observaram que os animais que receberam o grão de soja integral nas rações apresentaram CMS menor que os animais que receberam a dieta controle. Porém, no mesmo estudo, as vacas que receberam grão de soja integral apresentaram maior CMS do que as que receberam óleo na ração, apesar de tais animais estarem no início da lactação. No entanto, a produção e a composição do leite não foram afetadas pelas fontes de gordura.

Já Duarte et al. (2005) não observaram redução do CMS em dietas com e sem o grão de soja integral em vacas Jersey no início da lactação em relação a outras fontes de gordura. Corrêa (2007) verificou resultados semelhantes, onde este autor não observou redução do CMS de vacas Holandesas recebendo o grão de soja integral em relação ao grão soja integral e o farelo de soja, onde as vacas utilizadas neste estudo estavam no início da lactação com média de produção de 25,0 Kg/dia. Faldet e Satter (1991) e Tice, Eastridge e Firkins (1993) também não verificaram redução do CMS de vacas da raça Holandesas no início da lactação recebendo grão de soja integral.

4.4 DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL DOS NUTRIENTES

O efeito do uso de gordura sobre a digestibilidade dos nutrientes da dieta pode ser influenciado por uma série de fatores, especialmente pela característica inerente ao suplemento e sua forma de utilização, como o nível e tipo de suplemento utilizado, e o tipo de volumoso utilizado durante a suplementação. A redução na digestibilidade da matéria seca total e da fibra pode reduzir a taxa de passagem e, conseqüentemente, o consumo de matéria seca e energia líquida. Dados da literatura mostram que a interação entre a dieta basal e suplementação de lipídios sobre a digestibilidade total são inconsistentes. Óleos reduzem a digestibilidade aparente total de carboidratos quando se fornece silagem de milho como volumoso comparado com outros volumosos como o feno de gramíneas (BEN SALEM et al., 1993). No entanto, Bateman e Jenkins (1998) demonstraram que grandes quantidades de óleo de soja em combinação com altas quantidades de forragem nas rações podem ser fornecidas sem prejuízo sobre a digestibilidade aparente total.

Palmquist e Conrad (1978) utilizaram vacas da raça Holandesa e Jersey e avaliaram rações contendo farelo de soja, grão de soja cru e moído e uma mistura de gordura hidrogenada em duas proporções, perfazendo cerca de 3,18, 5,93, 5,73 e 10,8% de extrato etéreo na matéria seca das rações. Em relação à digestibilidade aparente total (DAT) dos nutrientes, os autores encontraram efeitos desejados da suplementação com fontes de gordura, especialmente na DAT do extrato etéreo e do nitrogênio.

Pereira et al. (1998) trabalharam com dois tratamentos, 0 e 30% (na MN), de grão de soja moído grosseiramente no concentrado, e o volumoso utilizado foi a silagem de milho. Os autores observaram que não houve diferença para a DAT dos nutrientes. Schauff et al. (1992)

em experimento com grão de soja integral e sebo bovino (2,5 e 4%), observaram que as digestibilidade de MS, MO, celulose, conteúdo celular e PB diminuíram, quando fontes de gordura foram adicionadas à dieta. Entretanto, as digestibilidades de FDA, FDN e hemicelulose não foram afetadas.

Mora, Leão e Valadares Filho (1996) avaliaram vacas de 26,0 Kg de leite/dia, após o pico de lactação, alimentadas com silagem de milho como volumoso basal e o concentrado continha 0, 15, 30 e 45% de grão de soja moído, e a relação volumoso/concentrado da dieta era de 50/50. Os autores não observaram efeitos das dietas experimentais sobre a DAT da MS e da PB, entretanto as dietas experimentais influenciaram positivamente a digestibilidade do extrato etéreo e negativamente a digestibilidade da matéria orgânica e da FDN.

A digestibilidade aparente encontrada em rações contendo 9,4% de grão de soja cru (na MS), consumidas por vacas da raça Holandesa durante 12 semanas experimentais, foi medida por Bernard (1990), cujos valores para coeficiente de digestibilidade da MS (CDMS) e coeficiente de digestibilidade da PB (CDPB) não diferiram para as dietas controle e grão de soja. Os autores também descrevem que houve aumento no coeficiente de digestibilidade EE do (CDEE) para as dietas contendo soja. Rabello, Valadares Filho e Coelho da Silva (1996) não encontrou diferença entre as dietas experimentais para os CDMS, os coeficientes de digestibilidade da MO (CDMO), os CDPB e os CDEE, para os tratamentos com ou sem inclusão de grão de soja moído no concentrado.

4.5 FERMENTAÇÃO RUMINAL E SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA

Segundo Jenkins (1993), a variação dos efeitos das fontes de gordura sobre a fermentação ruminal pode ser atribuída às diferenças entre as estruturas dos lipídios. Dentre esses fatores o grau de insaturação dos ácidos graxos pode ser considerada característica essencial das gorduras quando utilizadas como fonte de energia nas rações de ruminantes. Isso porque os ácidos graxos insaturados podem inibir a fermentação ruminal em relação a ácidos graxos saturados. Ainda, essa característica específica pode ser justificada pelo fato de que a mistura de ácidos graxos saturados e insaturados pode melhorar a fermentação quando comparada com fontes simples de ácidos graxos (HAVERTINE; ALLEN, 2006).

Entretanto, quando lipídios são adicionados nas rações de ruminantes podem afetar a fermentação ruminal causando redução da digestibilidade dos nutrientes da dieta. A digestão

ruminal de carboidratos estruturais pode ser reduzida em 50% quando menos de 10% de gordura é adiciona nas rações. Esta redução na digestão é acompanhada pela redução na produção de metano, hidrogênio, e ácidos graxos voláteis, incluindo baixa razão acetato: propionato (JENKINS, 1993). Ácidos graxos parcialmente na forma não esterificada são tóxicos aos microrganismos ruminais e podem diminuir a degradação de fibra (PALMQUIST; JENKINS, 1980; CHALUPA et al., 1984; JENKINS, 1993).

De acordo com Palmquist (1988), o efeito dos ácidos graxos sobre a degradabilidade ruminal de nutrientes pode ser minimizado se a dieta contiver alta quantidade de volumoso, isso podendo ser comprovado principalmente pela capacidade da forragem em manter o funcionamento normal do rúmen. Assim, os efeitos de ácidos graxos insaturados sobre a digestão ruminal podem ser variáveis, onde o tipo de volumoso utilizado durante a suplementação pode ser considerado fator preponderante para que isso ocorra (UEDA et al., 2003).

Onetti e Grummer (2004) enfatizaram que a utilização de silagem de milho como volumoso pode causar mudanças na população bacteriana no rúmen, favorecendo organismos responsáveis pela formação de *trans*-10, *cis*-12 CLA, e isômeros *tras* de C18:1, ou seja, favorecendo o processo de biohidrogenação que causa a formação de CLA específico, reduzindo a síntese de gordura do leite (BAUMMAN; GRINARI, 2001).

O fornecimento de dietas com alta proporção de silagem de milho como volumoso diminui no rúmen a proporção molar de acetato e reduz a de propionato quando comparadas a dietas ricas em silagem de alfafa, ou dietas com proporções iguais das duas forragens (BRODERICK, 1985; DHIMAN; SATTER, 1997; ONETTI et al., 2001). No entanto, é preciso enfatizar que além do volumoso utilizado em maior quantidade na dieta durante a suplementação de gordura, a fase na qual se iniciou a suplementação pode influenciar as mudanças do padrão de fermentação ruminal.

Com relação ao uso de feno durante a suplementação de gordura, os efeitos desse volumoso não têm apresentado alterações no padrão de fermentação ruminal, sendo diferente em relação ao uso de silagem de milho. Elliot et al. (1993) e Ueda et al. (2003) avaliaram suplementação de gordura em vacas leiteiras no início de lactação e utilizaram feno de gramíneas como principal volumoso nas dietas, e observaram redução na proporção molar de acetato em relação à de propionato. Certas fontes de gordura, especialmente na forma protegida da degradação ruminal, como os sais de cálcio de ácidos graxos de cadeia longa, e fontes de gordura que possuem proteção natural, como sementes de oleaginosas inteiras ou parcialmente quebradas, possuem efeito inerte sobre a população microbiana, não

apresentando toxicidade da gordura sobre os processos de degradação ruminal de nutrientes, especialmente da fibra (ALLEN, 2000; PALMQUIST; MATTOS, 2006).

A concentração de ácidos graxos livres insaturados provavelmente determina maiores efeitos negativos na capacidade fermentativa do rúmen do que outras frações lipídicas (ácidos graxos livres saturados e triglicerídeos). Portanto, a suplementação com óleos vegetais, reconhecida fonte de ácidos graxos insaturados, seria um grande causador de distúrbios de fermentação, independente do volumoso utilizado. Entretanto, quando esta fonte é fornecida na forma de sementes de oleaginosas (grão de soja), estes distúrbios podem ser significativamente reduzidos, onde o óleo é liberado mais lentamente, em taxas onde não há um comprometimento na digestibilidade de nutrientes (COPPOCK; WIKS, 1991).

Chouinard, Girard e Brisson (1998) avaliando a adição de sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de canola, linhaça e soja na dieta de vacas e encontraram digestibilidade aparente total da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e FDN maiores para as dietas suplementadas com sais de cálcio do que para a dieta controle. O fornecimento de ácidos graxos na forma de sementes inteiras tem efeitos mínimos sobre a fermentação (DePETERS et al., 1987), provavelmente devido a liberação lenta do óleo no fluido ruminal.

O uso de gorduras em rações para ruminantes apresenta efeitos desejáveis, como inibição da produção de metano, redução da concentração de NH_3 ruminal, aumento na eficiência da síntese microbiana e aumento de ácido linolêico conjugado (CLA) no leite, que tem sido considerado um importante agente anticarcinogênico (LIN et al., 1995). Por outro lado pode apresentar efeitos indesejados como citados anteriormente, como a redução na digestibilidade da matéria seca (MS) e redução na relação acetato:propionato com conseqüente diminuição da gordura do leite.

Van Nevel e Demeyer (1988) observaram aumento da eficiência da síntese microbiana e redução da concentração de NH_3 em animais recebendo gordura nas dietas. Isto ocorreu, provavelmente, devido ao efeito sobre a defaunação (redução na produção de protozoários) e/ou pela diminuição da população de bactérias desaminadoras. Estes resultados foram confirmados por Lana e Russell (1996), ao verificar que o óleo de milho, similarmente aos ionóforos monensina e lasalocida, aumentaram a resistências das bactérias ruminais a perda do potássio intracelular, quando as bactérias ruminais foram submetidas a níveis crescentes de ionóforos *in vitro*.

Porém, são escassos na literatura estudos que avaliaram a utilização de fontes de gordura e a síntese de proteína microbiana ruminal.

4.6 PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE

Vacas alimentadas com dietas suplementadas com gordura podem aumentar a produção de leite uma vez que aumentam a ingestão de energia ou melhoram a eficiência de utilização da energia (KLUSMEYER et al., 1991). O desempenho produtivo de vacas leiteiras suplementadas com fontes de gordura pode variar em função da dieta basal (especialmente o volumoso), estágio de lactação, balanço energético, composição e nível de inclusão da fonte de gordura utilizada (NRC, 2001).

A primeira razão para a ocorrência do aumento de produção é a melhor eficiência de utilização da gordura dietética, onde as perdas energéticas durante o metabolismo são menores em relação à utilização de grãos comumente utilizados em concentrados e em volumosos. Além disso, a adição de gordura para vacas em lactação aumenta a densidade energética dietética, permitindo que o consumo diário de energia seja aumentado (KLUSMEYER et al., 1991; STAPLES; THATCHER; MATTOS, 2001).

No entanto, é preciso enfatizar que as diferentes fases de lactação podem influenciar o aproveitamento de energia devido ao balanço de energia em que o animal se encontra. Esse benefício foi confirmado por Onetti e Grummer (2004) onde observaram que vacas em início de lactação utilizaram de forma mais eficiente o aumento da densidade energética das rações com gordura em relação a vacas no terço médio de lactação, atribuindo tal fato as diferenças na partição de nutrientes e possivelmente ao balanço energético dos animais suplementados.

No início de lactação, o suprimento da exigência energética de vacas leiteiras pode ser limitado pela capacidade de ingestão de matéria seca. Dentre as estratégias nutricionais que aumentam a densidade energética das rações, encontra-se a inclusão de altas taxas de carboidratos não-fibrosos e a suplementação de gordura. A alimentação com altos níveis de carboidratos não-fibrosos pode fazer com que as vacas predisponham a uma acidose no rúmen e à redução no consumo e teor de gordura no leite.

A adição de lipídeos na dieta, por meio de óleos, e especialmente de sementes de oleaginosas como o grão de soja, pode melhorar o nível energético para atender a demanda de alta produção de leite. Esta adição além de permitir maior incorporação de ácidos graxos de cadeia longa na gordura do leite, melhora a eficiência da energia metabolizável utilizada na produção de leite, uma vez que ácidos graxos da dieta podem ser incorporados à gordura do leite, com redução da energia na síntese de ácidos graxos (HUTJENS; SCHULTZ, 1971; MOHAMED et al., 1988).

Com relação à resposta produtiva, Chilliard (1993) resumizou diversos estudos envolvendo a suplementação de gordura para vacas leiteiras, e observou também que, dependendo da fase de lactação em que se iniciou a suplementação, as respostas produtivas variaram de 0,31 a 0,72 Kg de leite/dia/vaca. Staples, Thatcher e Mattos (2001) também citaram que a resposta produtiva da utilização de gordura dietética suplementar para vacas em lactação pode resultar em acréscimos na produção de leite de até 2,0 a 2,5 Kg/vaca/dia, condicionando estes resultados a adaptação dos animais as dietas contendo gordura e ao tempo suficiente de avaliação para responderem as dietas ricas em energia.

Com relação a variações na composição do leite, o teor de gordura e proteína do leite são as frações que estão sujeitas as maiores alterações durante a suplementação com gordura nas deitas. O processo de biohidrogenação ruminal pode causar indiretamente variações no teor de gordura do leite. Estudos na literatura têm demonstrado efeitos da variação no perfil de ácidos graxos da gordura do leite com a suplementação de fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras (WONSIL; HERBEIN; WATKINS, 1994; BAUMAN; DHIMAN et al., 2000; GRIINARI, 2001).

Segundo Allen (2000), o processo de biohidrogenação é mais intenso, sendo maior de 90%, quando se fornece óleos nas rações. Esse processo pode ser realizado por rota alternativa, produzindo ácidos graxos específicos *cis-9, trans-11*- CLA e o *trans-10, cis-12* CLA (DHIMAN et al., 2000; BAUMAN; GRIINARI, 2001). Estudos recentes demonstraram que o isômero *trans-10, cis-12* CLA produzido durante o processo de biohidrogenação têm efeito inibidor sobre a síntese da gordura do leite na glândula mamária (CHOUGINARD et al., 1999; BAUMAN; GRIINARI, 2001).

Embora tais fatores possam influenciar de forma ativa a variação no teor de gordura do leite, a intensidade de tal mudança é inerente ao tipo e nível de suplemento utilizado, e ao nível de fibra da dieta, especialmente advindas do volumoso utilizado em maior quantidade durante a suplementação.

O uso de fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras pode também promover redução no teor de proteína do leite. Por outro lado, em alguns casos a redução no teor de proteína do leite pode ocorrer possivelmente pelo simples efeito de diluição devido ao aumento da produção de leite quando são fornecidas rações com adição de gordura (GARNSWORTHY, 2002), ou por variações nas concentrações das frações protéicas no leite, como a concentração de caseína, ou nas variações nas concentrações de alguns hormônios que podem promover mudanças fisiológicas que afetam a síntese de proteína do leite (WU; HUBER, 1993).

Essa variação no teor de proteína do leite em resposta a suplementação de gordura tem sido citada na literatura (WU; HUBER, 1993; WU et al., 1994; ROMO et al., 2000) e algumas hipóteses tem sido propostas procurando explicar a razão para este decréscimo.

A primeira teoria foi denominada de “deficiência de glicose” onde, teoricamente, a substituição de carboidratos rapidamente fermentáveis no rúmen por suplementos de gordura resultaria em menores quantidades de precursores para a síntese de glicose. No entanto, Canale et al. (1990) e Chow, DePeters e Baldwin (1990) teorizam que a redução da síntese de proteína do leite ocorre devido à redução da produção de proteína microbiana, que pode representar consequência da suplementação de gordura, pois o *pool* de aminoácidos no animal seria reduzido devido ao aumento da utilização de aminoácidos utilizados para a gliconeogênese. Esta redução poderia alterar a produção de proteína do leite de forma mais acentuada quando comparada ao suprimento de glicose.

Outra teoria descreve a resistência à insulina de alguns tecidos sobre a síntese de proteína do leite. Palmquist e Moser (1981) verificaram que a taxa de glicose em vacas leiteiras foi correlacionada negativamente com os aumentos das concentrações de insulina causada pela glicose. Estes autores verificaram que altas taxas de insulina foram observadas em vacas leiteiras que receberam altas quantidades de gordura nas rações, e assim esses altos níveis de gordura poderiam causar resistência à insulina a qual pode reduzir o fluxo de aminoácidos para a glândula mamária para síntese de proteína do leite.

O aumento da eficiência energética para produção de leite representa mais uma teoria que tenta explicar a possível redução da proteína do leite em vacas suplementadas com gordura. Durante a suplementação de gordura a síntese de novo de ácidos graxos do leite é diminuída devido à incorporação da adição de ácidos graxos da dieta no leite. Essa diminuição pode reduzir as exigências de acetato e aumentar o aproveitamento de glicose para síntese de lactose, a qual é associada com o aumento da produção de leite ou eficiência de produção de leite, resultando em diminuição do fluxo sanguíneo mamário. Assim, a redução do fluxo sanguíneo mamário poderia reduzir o fornecimento de aminoácidos para a síntese de proteína do leite, levando a redução da concentração de proteína no leite.

Por último, Casper e Schingoethe (1989) sugerem que a relação da somatotropina da glândula pituitária pode ser reduzida pela elevada concentração de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no plasma, e que sua deficiência poderia reduzir a absorção de aminoácidos do sangue para proteína do leite.

A hipótese mais aceita envolve o aumento no fornecimento de energia consiste no suprimento de aminoácidos, onde este último não consegue atender a demanda para síntese de

proteína na mesma intensidade na qual ocorre aumento do consumo de energia (CANT; DePETERS; BALDWIN, 1993). Onetti e Grummer (2004) utilizaram fontes de gordura e observaram baixa concentração de N-NH_3 ruminal como consequência de dietas com alta quantidade de silagem de milho e presença de ácidos graxos insaturados, que pode reduzir o crescimento microbiano e consequentemente o aproveitamento de aminoácidos disponíveis para a glândula mamária e para síntese de proteína.

Smith, Dunkley e Franke (1978) avaliaram a inclusão de suplemento de gordura contendo 40% de sebo e 60% farelo de soja tratado com formaldeído, perfazendo dieta total com 14,3% de extrato etéreo em vacas leiteiras no início de lactação. Estes autores verificaram redução no teor de proteína do leite para os animais suplementados com gordura. Canale et al. (1990) também verificaram redução no teor de proteína do leite de vacas leiteiras suplementadas com sais de cálcio de ácidos graxos.

Wu e Hurber (1993) revisaram dados de 49 experimentos, envolvendo 83 comparações entre rações com e sem adição de gordura em vacas leiteiras, e observaram que na maioria dos casos o teor de proteína foi reduzido pela adição de fontes de gordura nas rações. Estes autores concluíram que a redução do teor de proteína verificada nos estudos avaliados pode ser explicado em parte pelo aumento da produção de leite, sendo o grau de depressão dependente da fonte de gordura utilizada e resposta a suplementação.

A utilização de sementes de oleaginosas como o grão de soja, pode melhorar o nível energético para atender a demanda de alta produção de leite, além de permitir maior incorporação de ácidos graxos de cadeia longa na gordura do leite, sem que ocorra alterações na fermentação ruminal, devido a liberação lenta de lipídeos no rúmen, não ultrapassando a capacidade de biohidrogenação. O aumento na produção de leite somado à sua composição, principalmente em regiões onde os produtores recebem por concentração de gordura e proteína, juntamente com um retorno econômico adequado, é o objetivo principal quando se busca novas alternativas ou melhor utilização de recursos disponíveis.

4.7 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE

Os avanços da pesquisa, especialmente nas técnicas de análise de gordura, permitiram separar a gordura animal em seus componentes menores, os ácidos graxos, e avaliar o efeito individual destes em modelos experimentais. Destes estudos descobriu-se que vários ácidos

graxos possuem propriedades benéficas à saúde, como o ácido butírico e os ácidos graxos insaturados: ácidos oléico, eicosapentaenóico (EPA), decosaheptaenóico (DHA) e os ácidos linoléicos conjugados (CLAs) (LEITE; LANNA, 2009).

Além dos efeitos na saúde, os ácidos graxos da classe ômega 3 e 6 e CLA apresentam a capacidade de modificar o metabolismo de alguns tecidos, o que pode ser usado estrategicamente em algumas situações com a finalidade de melhorar o desempenho animal. Por exemplo, a depressão de síntese de gordura no leite, provocada pelo CLA *trans*-10, *cis*-12, que pode ser usado para diminuir o gasto energético de vacas leiteiras em início de lactação, amenizando o balanço energético negativo (MEDEIROS et al., 2000). Outro exemplo são os ácidos graxos da classe ômega 3 que podem influenciar positivamente a reprodução e o sistema imunológico de vacas.

A gordura no leite é composta por 97-98% de triglicerídeos, sendo o restante formado por fosfolípidios e esteróis. Em torno de 500 ácidos graxos são encontrados esterificados na molécula de triglicerídeo (DEMEYER; DOREAU, 1999).

A gordura no leite é sintetizada a partir dos ácidos graxos obtidos de diversas fontes: da gordura da dieta, da mobilização de triglicerídeos do tecido adiposo ou através da síntese própria, chamada de síntese *de novo*.

A síntese *de novo* é responsável pela produção de ácidos graxos de cadeia curta (C4-10). No caso dos ácidos graxos de cadeia média (C12-16) apenas 50% são sintetizados por esta via, o restante vem de ácidos graxos pré-formados. Os ácidos graxos de cadeia longa (>C18) e 50% dos ácidos graxos de cadeia média chegam a glândula mamária através da circulação sanguínea (DEMEYER; DOREAU, 1999).

A síntese *de novo* ocorre a partir do acetato e do 3-hidroxibutirato, sendo que o último contribui com cerca de 15% do conteúdo de carbono. O principal processo metabólico envolve duas enzimas, a Acetil-COA Carboxilase (ACC) e o complexo ácido graxo sintase (FAS). A ACC catalisa a ação de malonil-COA a partir do acetato enquanto a FAS catalisa ciclos de condensação do malonil-COA ou butiril-COA, provenientes do acetato e hidroxibutirato, respectivamente (LEITE; LANNA, 2009).

O produto final desta reação no tecido adiposo é o C14:0 e predominantemente o C16:0. Porém, a FAS da glândula mamária de ruminantes produz grande quantidade de ácidos graxos de cadeia curta (CHILLIARD et al., 2000). Esta produção ocorre devido a ativação de transacilase da FAS, que pode tanto incorporar quanto liberar cadeias acil com comprimento de 2 a 12 carbonos. Os ácidos graxos de cadeia curta e média são liberados antes de

completarem todos os ciclos de condensação até C14 ou C16, e são, então, incorporados na molécula de triglicerídeo (KNUDSEN; HANSEN; MIKKELSEN 1986).

Ao contrário dos outros tecidos de ruminantes, a glândula mamária não é capaz de converter o C16 em C18, através da elongação da cadeia, porém apresenta alta atividade da delta-9 dessaturase, o qual converte o ácido esteárico em ácido oléico (C18:1 *cis*-9). Estas atividades da glândula mamária são importantes para controlar a fluidez de gordura no leite (CHILLIARD et al., 2000).

Os ácidos graxos pré-formados captados pela glândula mamária são oriundos dos ácidos graxos não esterificados (AGNE) ou das lipoproteínas ricas em triglicerídeos (quilomícron e lipoproteína de muito baixa densidade – VLDL). O uso do AGNE pela glândula mamária é diretamente relacionado à sua concentração sangüínea, o qual por sua vez é relacionado à mobilização de reservas corporais. Já o uso de ácidos graxos a partir de lipoproteínas é determinado pela atividade da enzima lipoproteína lipase, o qual é alta na glândula mamária de ruminantes em lactação. Os ácidos graxos pré-formados são ácidos de cadeia longa, em sua grande maioria, e saturados ou monoinsaturados, devido a biohidrogenação promovida pelas bactérias ruminais. Ácidos graxos de cadeia ímpar ou ramificada podem também aparecer na gordura do leite tendo origem na síntese microbiana no rúmen (CHILLIARD et al., 2000).

O perfil da gordura no leite varia em função da partição relativa de cada uma das fontes de ácidos graxos da glândula mamária. A mobilização é muito importante no início da lactação, mas diminui com o avanço da mesma. A absorção de lipídeos da dieta sofre influencia do processo de biohidrogenação ruminal, que tende a saturar os ácidos graxos poli-insaturados, formando também, além de ácidos graxos saturados, vários intermediários mono ou poli-insaturados de cadeia *trans*. O processo de biohidrogenação pode ser manipulado por alterações da dieta, produzindo uma gama enorme de ácidos graxos. A síntese *de novo* também sofre influencia da dieta e de fatores metabólicos no rúmen.

O uso de fontes de gordura na dieta de ruminantes pode alterar a composição ou o perfil de ácidos graxos presentes no leite, bem como o teor de gordura. O grão de soja possui grande percentual de ácidos graxos insaturados, e ainda, se fornecida de forma integral, pode-se minimizar os efeitos dos lipídeos sobre a fermentação ruminal, devido ao menor contato dos lipídeos com os microorganismos, pois funciona como um tipo de gordura protegida (BYERS; SCHELLING, 1989).

Os efeitos da gordura dietética sobre a composição da gordura do leite têm sido amplamente estudados, como objetivo de verificar o efeito da fonte de lipídeo adicionada à dieta sobre o perfil de ácidos graxos no leite.

4.8 PARÂMETROS SANGUÍNEOS

Variações dos metabólicos sanguíneos em vacas leiteiras permitem estimar o processo de adaptação metabólica a novas situações fisiológicas ou de alimentação. Estudos citados na literatura apontam resultados inconsistentes com relação aos efeitos da suplementação de gordura nas rações sobre o metabolismo de ruminantes. De acordo com Christensen et al. (1994), o metabolismo ruminal, absorção intestinal, transporte sistêmico, metabolismo sistêmico, secreção e deposição de gordura no organismo são aspectos diretamente ligados ao metabolismo de lipídios e podem influenciar os parâmetros sanguíneos em animais recebendo gordura nas rações.

No metabolismo das gorduras o fígado é um órgão de grande importância, pois recolhe do sangue quilomicrons e lipoproteínas de densidade muito baixa que estão presentes em abundância durante a absorção intestinal e durante a mobilização de reservas corporais e, após, hidrolisa e reesterifica os ácidos graxos. Assim devolve ao sangue os ácidos graxos na forma de triglicerídeos, fosfolipídeos e ésteres de colesterol incorporados nas lipoproteínas, fundamentalmente nas de baixa densidade (NIEMEYER, 1978). A maior concentração de lipídeos no sangue é explicada pelo aumento da gordura absorvida no intestino ou proveniente da lipólise (JENKINS; JENNY, 1992).

Entretanto, é preciso considerar que além da fase de lactação, o nível de produção também reflete mudanças no padrão do perfil metabólico em vacas em produção. Gonzales e Rocha (1998) enfatizaram que vacas de alta produção apresentam níveis sanguíneos de colesterol, uréia e aspartato aminotransferase (AST) significativamente mais elevados, e níveis de cálcio e glicose mais baixos comparados com vacas de baixa produção.

No âmbito da avaliação dos parâmetros sanguíneos de vacas suplementadas com gordura, pode-se afirmar que durante o período de suplementação são esperados aumentos dos níveis de colesterol total, triglicerídeos, e colesterol nas frações HDL, LDL e VLDL, especialmente em função do aumento do nível de gordura circulante (BAUMAN; LOCK, 2006). Ingraham e Kappel (1988) enfatizaram que avaliar os níveis plasmáticos de colesterol

seria parâmetro a ser utilizado para avaliar a capacidade da vaca em produzir mais leite, uma vez que tal concentração reflete a capacidade de mobilização de gordura corporal e ingestão de gordura da dieta para lactogênese.

Elliott et al. (1993) e Bremmer; Ruppert e Clark (1998) verificaram aumento da concentração de triglicerídeos e colesterol total em vacas no início de lactação com médias de produção de 40, 35 e 25 Kg/dia. Quando se observa a concentração dos mesmos metabólitos sanguíneos em vacas no terço médio de lactação em resposta a suplementação de gordura, não há diferenças nos resultados, ou seja, o aumento do nível de gordura nas dietas promove aumento de tais compostos circulantes de maneira semelhante em vacas no início e terço médio da lactação (KRONFELD et al., 1980; DRACKLEY et al., 1992). Schauff e Clark (1992) e Elliott et al. (1993) enfatizaram que o aumento da concentração de colesterol total no sangue ocorre devido à elevação da demanda necessária para digestão, absorção e transporte de ácidos graxos de cadeia longa ingerida advinda das fontes de gordura.

Além dos metabólitos relacionados ao lipidograma, a determinação da concentração de nitrogênio e uréia circulante é importante para avaliação do balanço de nitrogênio da ração fornecida, pois reflete parte do metabolismo ruminal de proteínas, além de possibilitar avaliação do balanço de proteína/energia da dieta (GONZALES; ROCHA, 1998).

Drackley et al. (1992) e Elliott et al. (1993) avaliaram a suplementação de gordura em vacas Holandesas e não observaram mudanças nas concentrações de uréia no sangue dos animais. De acordo com Schauff et al. (1992), mudanças nas concentrações de uréia e nitrogênio plasmático poderiam ser atribuídas às baixas concentrações de nitrogênio amoniacal no rúmen.

Ávila et al. (2000) avaliaram a suplementação de sebo, gordura amarela e a mistura de ambos em rações experimentais contendo teor médio de extrato etéreo de 6,2 % da MS em vacas no terço médio de lactação. Estes autores verificaram que as concentrações de triglicérides foram significativamente aumentadas no sangue de vacas suplementadas com as rações contendo fontes de gordura, e observaram diminuição nas concentrações plasmáticas de glicose quando sebo foi fornecido nas rações. Estes autores ainda não verificaram alterações nas concentrações de nitrogênio uréico no plasma para as rações experimentais.

Gonthier et al., (2005) observaram maiores concentrações de colesterol em vacas no terço final de lactação, suplementadas com sementes de linhaça com rações contendo cerca de 7,2% de ácidos graxos na MS. Entretanto, estes autores não verificaram alterações nas concentrações de glicose plasmática para vacas suplementadas com gordura.

Petit et al. (2002) avaliaram a suplementação de sais de cálcio de ácidos graxos, sementes de linhaça e soja micronizada como fonte de gordura nas rações de vacas leiteiras no início de lactação com rações contendo cerca de 8,0% de EE. Estes autores observaram maior concentração de colesterol para as vacas suplementadas com sais de cálcio de ácidos graxos, e baixa concentração para sementes de linhaça.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 LOCAL, INSTALAÇÕES E ANIMAIS

O experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, no período de 20 de maio a 11 de agosto de 2009. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa, agrupadas em três quadrados latinos 4x4, contemporâneos e balanceados de acordo com o período de lactação. O experimento foi constituído por quatro períodos, com duração de 21 dias cada um, sendo os 14 primeiros dias de adaptação às rações e os demais para avaliar as variáveis mensuradas. Os animais foram alimentados com quatro rações durante o período experimental, formuladas para serem isonitrogenadas, de forma a atenderem as exigências nutricionais de vacas em lactação com aproximadamente 580 Kg de peso corporal, 12 semanas de lactação, produzindo diariamente 30,0 Kg de leite com 3,5% de gordura, conforme recomendações do NRC (2001).

5.2 RAÇÕES EXPERIMENTAIS

Os animais foram distribuídos aleatoriamente para receber as seguintes rações experimentais: 1) Controle (C), composto por ração sem a inclusão de grão de soja; 2) Grão de soja integral 8% (G8), 3) Grão de soja integral 16% (G16), e 4) Grão de soja integral 24% (G24), com a utilização respectivamente, de 8,0, 16,0 e 24% de grão de soja cru e integral na ração, na matéria seca. Durante o período experimental foi utilizada a silagem de milho como volumoso, e as respectivas rações e água foram fornecidos “ad libitum”.

A proporção dos ingredientes no concentrado e dieta total, assim como a respectiva composição bromatológica das rações experimentais, concentrados e ingredientes encontram-se nas tabelas 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes do concentrado, expressa na matéria seca (%MS)

Ingredientes (%MS)	Concentrados experimentais ¹			
	C	G8	G16	G24
Milho moído	54,41	45,74	40,18	34,52
Farelo de soja	37,76	31,09	21,07	10,14
Grão de soja	-	16,07	32,13	48,75
Uréia	1,04	0,38	-	-
Sulfato de amônia	0,20	0,20	0,10	-
Bicarbonato de sódio	1,60	1,60	1,61	1,62
Óxido de magnésio	0,18	0,18	0,18	0,18
Calcáreo	0,28	0,28	0,28	0,28
Agromix leite ²	3,97	3,97	3,97	4,02
Sal comum	0,48	0,48	0,48	0,49

¹ Controle (C); G8, G16 e G24 se referem a inclusão de, respectivamente, 8, 16 e 24% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca;

² Composição por quilograma de produto: cálcio-190g, fósforo-73g, enxofre-30g, magnésio-44g, cobre-340mg, zinco-1350mg, manganês-940mg, cobalto-3mg, iodo-16mg, selênio-10mg, ferro-1064mg, vitamina A-100000, vitamina D-40000, vitamina E-600,0.

Tabela 2 – Composição percentual dos ingredientes nas rações, expressa na matéria seca (%MS)

Ingredientes (%MS)	Rações experimentais ¹			
	C	G8	G16	G24
Silagem de milho	50,17	50,17	50,17	50,17
Milho moído	27,10	22,80	20,02	17,02
Farelo de soja	18,83	15,50	10,50	5,00
Grão de soja	-	8,01	16,01	24,04
Sulfato de amônia	0,10	0,10	0,05	-
Bicarbonato de sódio	0,80	0,80	0,80	0,80
Óxido de magnésio	0,09	0,09	0,09	0,09
Calcáreo	0,14	0,14	0,14	0,14
Agromix leite ²	1,98	1,98	1,98	1,98
Sal comum	0,24	0,24	0,24	0,24

¹ Controle (C); G8, G16 e G24 se referem a inclusão de, respectivamente, 8, 16 e 24% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca;

² Composição por quilograma de produto: cálcio-190g, fósforo-73g, enxofre-30g, magnésio-44g, cobre-340mg, zinco-1350mg, manganês-940mg, cobalto-3mg, iodo-16mg, selênio-10mg, ferro-1064mg, vitamina A-100000, vitamina D-40000, vitamina E-600,0.

Tabela 3 – Composição bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais

Composição química	SM ⁶	FS ⁷	Milho ⁸	GS ⁹
Matéria Seca (MS) ¹	34,30	89,21	88,98	91,42
Matéria Orgânica (MO) ²	94,68	94,17	98,40	94,80
Matéria Mineral (MM) ²	5,32	5,83	1,60	5,20
Proteína Bruta (PB) ²	6,81	49,87	9,97	37,63
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Neutro (NIDN) ³	31,66	19,47	14,61	17,67
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido (NIDA) ³	15,31	4,23	13,89	4,13
Extrato Etéreo (EE) ²	3,85	2,44	2,34	20,31
Carboidratos Totais (CT) ²	84,03	41,87	86,09	36,87
Fibra em Detergente Neutro (FDN) ²	52,20	12,73	11,53	17,18
FDN corrigida para Cinzas e Proteína (FDN _{CP}) ²	48,20	3,45	10,07	10,52
Carboidratos Não Fibrosos (CNF) ²	31,83	29,14	74,56	19,59
Fibra em Detergente Ácido (FDA) ²	36,05	10,68	4,50	14,66
FDA indigestível (FDAi) ²	13,91	0,78	1,04	0,90
Lignina ²	6,96	0,62	1,03	2,32
Nutrientes Digestíveis Totais (NDT) ⁴	69,55	80,90	82,30	108,28
Energia Líquida de Lactação (EL _L) ⁴ (Mcal/Kg)	1,57	1,86	1,90	2,53
Energia Bruta (EB) ⁵ (cal/g/MS)	3917,13	4148,63	3874,75	5051,38

¹Valor expresso em porcentagem da matéria natural; ²Valores expressos em porcentagem da matéria seca;

³Valores expressos em porcentagem do nitrogênio total; ⁴Valores estimados pelas equações do NRC (2001);

⁵Obtido com auxílio de bomba calorimétrica; ⁶SM: silagem de milho; ⁷FS: farelo de soja; ⁸Milho moído; ⁹GS: Grão de soja

Tabela 4 – Composição bromatológica dos concentrados experimentais

Composição química	Concentrados experimentais ⁵			
	C	G8	G16	G24
Matéria Seca (MS) ¹	89,73	89,92	90,23	89,66
Matéria Orgânica (MO) ²	89,16	89,55	89,87	89,87
Matéria Mineral (MM) ²	10,84	10,45	10,13	10,13
Proteína Bruta (PB) ²	27,13	27,10	26,51	26,47
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Neutro (NIDN) ³	9,35	9,20	9,20	9,20
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido (NIDA) ³	8,79	8,31	8,31	5,99
Extrato Etéreo (EE) ²	2,19	5,08	7,96	10,81
Carboidratos Totais (CT) ²	59,83	57,37	55,40	52,59
Fibra em Detergente Neutro (FDN) ²	11,06	11,95	12,79	13,46
FDN corrigida para Cinzas e Proteína (FDN _{CP}) ²	6,77	7,35	8,13	8,83
Carboidratos Não Fibrosos (CNF) ²	55,28	51,66	48,99	45,51
Fibra em Detergente Ácido (FDA) ²	6,47	7,71	8,74	8,43
Lignina ²	0,64	1,03	1,28	1,53
Nutrientes Digestíveis Totais (NDT) ⁴	78,07	79,92	82,58	85,24
Energia Líquida de Lactação (EL _L) ⁴ (Mcal/Kg)	1,89	1,95	2,04	2,13

¹Valor expresso em porcentagem da matéria natural; ²Valores expressos em porcentagem da matéria seca;

³Valores expressos em porcentagem do nitrogênio total; ⁴Valores estimados pelas equações do NRC (2001);

⁵Controle (C); G8, G16 e G24 se referem a inclusão de, respectivamente, 8, 16 e 24% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca

Tabela 5 – Composição bromatológica das rações experimentais

Ingredientes (%)	Rações experimentais ⁶			
	C	G8	G16	G24
Silagem de milho	50,17	50,17	50,17	50,17
Milho moído	27,10	22,80	20,02	17,02
Farelo de soja	18,83	15,50	10,50	5,00
Grão de soja	-	8,01	16,01	24,04
Uréia	0,52	0,19	-	-
Sulfato de amônia	0,10	0,10	0,05	-
Bicarbonato de sódio	0,80	0,80	0,80	0,80
Óxido de magnésio	0,09	0,09	0,09	0,09
Calcáreo	0,14	0,14	0,14	0,14
Agromix leite ¹	1,98	1,98	1,98	1,98
Sal comum	0,24	0,24	0,24	0,24
<i>Composição química</i>				
Matéria Seca (MS) ²	62,01	62,13	62,27	61,98
Matéria Orgânica (MO) ³	91,92	92,12	92,28	92,28
Matéria Mineral (MM) ³	8,08	7,88	7,72	7,72
Proteína Bruta (PB) ³	16,97	16,96	16,66	16,64
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Neutro (NIDN) ⁴	20,51	20,43	20,43	20,43
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido (NIDA) ⁴	12,05	11,81	11,31	10,65
Extrato Etéreo (EE) ³	3,02	4,46	5,9	7,26
Carboidratos Totais (CT) ³	71,93	70,70	69,72	68,37
Fibra em Detergente Neutro (FDN) ³	33,04	33,48	33,91	32,83
FDN corrigida para Cinzas e Proteína (FDN _{CP}) ³	28,90	29,19	29,58	28,41
Carboidratos Não Fibrosos (CNF) ³	42,14	40,33	38,99	38,74
Fibra em Detergente Ácido (FDA) ³	21,26	21,88	22,4	22,24
Lignina ³	3,80	4,0	4,12	4,25
Nutrientes Digestíveis Totais (NDT) ⁵	73,31	74,08	75,42	76,95
Energia Líquida de Lactação (EL _L) ⁵ (Mcal/Kg)	1,72	1,75	1,79	1,84

¹Composição por quilograma de produto: cálcio-190g, fósforo-73g, enxofre-30g, magnésio-44g, cobre-340mg, zinco-1350mg, manganês-940mg, cobalto-3mg, iodo-16mg, selênio-10mg, ferro-1064mg, vitamina A-100000, vitamina D-40000, vitamina E-600,0; ²Valor expresso em porcentagem da matéria natural; ³Valores expressos em porcentagem da matéria seca; ⁴Valores expressos em porcentagem do nitrogênio total; ⁵Valores estimados pelas equações do NRC (2001); ⁶Controle (C); G8, G16 e G24 se referem a inclusão de, respectivamente, 8, 16 e 24% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca

Tabela 6 – Composição dos ácidos graxos dos ingredientes

Item	FS ¹	Milho ²	GS ³
Ácidos Graxos (g/100 g de AG ⁴)			
C14:0	0,45	0,52	0,25
C16:0	13,35	13,60	13,50
C18:0	2,36	4,07	4,01
C18:1 <i>cis</i>	29,75	13,37	20,79
C18:2	41,57	36,22	53,51
C18:3	0,95	0,71	6,95
outros	0,99	-	11,51

¹FS: farelo de soja; ²Milho moído; ³GS: Grão de soja; ⁴AG: ácidos graxos

5.3 ANÁLISE DE ALIMENTOS

Diariamente foram feitas pesagens da quantidade de volumoso e concentrado fornecidas e das sobras de cada ração experimental, para estimativa do consumo individual. Os animais foram arraçoados de acordo com o consumo de matéria seca do dia anterior, de forma a ser mantido porcentual de sobras das dietas, diariamente, entre 5 e 10 % do fornecido para haver limitação ou aumento de consumo. Em cada período experimental foram coletadas amostras de silagem, dos ingredientes do concentrado e sobras para a realização de análises bromatológicas e cálculo do consumo de matéria seca e nutrientes.

Nos alimentos fornecidos e nas amostras de sobras foram analisados os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e lignina de acordo com as metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002). O teor de proteína bruta (PB) foi obtido pela multiplicação do teor de nitrogênio total por 6,25.

Os carboidratos totais (CT) foram calculados segundo Sniffen et al. (1992), em que: $CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$. Os teores de carboidratos não-fibrosos (CNF) foram estimados segundo Hall (1998), onde: $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ Uréia} + \%Uréia) + \%EE + \%MM + \%FDN]$. Os nutrientes digestíveis totais observados $NDT = PBd + FDNd + (EEd * 2,25) + CNFd$ foram calculados de acordo com Weiss, Conrad e Pierre (1992).

Os teores de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente neutro livre de cinza e proteína (FDNcp), e fibra detergente ácido (FDA) foram obtidos conforme método descrito

por Van Soest e Mason (1991), utilizando-se α -amilase sem adição de sulfito de sódio na determinação do FDN, em Sistema Ankon®.

5.4 DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL

As fezes foram coletadas no 17º, 18º e 19º dias de cada período experimental, sempre antes das ordenhas da manhã e da tarde, sendo acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer à -20 °C, e ao final do período de coleta foi feita à amostra composta por animal com base no peso seco ao ar.

Na determinação da digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes a quantidade total de matéria seca fecal excretada foi estimada pela concentração de fibra em detergente ácido indigestível (FDAi).

As amostras de silagem, sobras e fezes foram pré-secas em estufa com ventilação forçada (60°C/72 horas), e, em conjunto com as demais amostras de ingredientes, foram processadas em moinho de facas com peneiras de 2 mm.

Para avaliação dos teores dos componentes indigestíveis, as amostras processadas foram acondicionadas em sacos de tecido não-tecido (TNT-100g/m²), com dimensões de 4 x 5 cm. As alíquotas foram acondicionadas em todos os sacos, segundo a relação de 20 mg de matéria seca por centímetro quadrado de superfície (NOCEK, 1988).

Antes da incubação das amostras duas vacas da raça Holandesa foram adaptadas durante 7 dias com ração a base de farelo de soja e milho moído, e recebendo silagem de milho como volumoso. Posteriormente ao período de adaptação dos animais, as amostras foram incubadas no rúmen por período de 240 horas, segundo adaptação de técnica descrita por (CASALI, 2006).

Após a retirada do rúmen os sacos foram lavados com água corrente até o total clareamento desta, e imediatamente conduzidos à estufa de ventilação forçada (60º/72 horas).

Após este período, os sacos foram submetidos à secagem em estufa não ventilada (105°C/45 minutos), sendo retirados, acondicionados em dessecador (20 sacos/dessecador), e pesados, obtendo-se a matéria seca indigestível. Posteriormente, os sacos foram submetidos ao tratamento com detergente ácido (MERTENS, 2002) por uma hora, em equipamento analisador de fibra Ankon®. Após este período foram lavados com água quente e acetona,

sendo secos e pesados conforme procedimento anterior. Ao final deste tratamento, obteve-se a FDAi.

5.5 EXCREÇÃO DE GRÃO DE SOJA NAS FEZES

As fezes para a separação do grão de soja foram coletadas no 17º, 18º e 19º dias de cada período experimental, sempre antes das ordenhas da manhã e da tarde, sendo acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer a -20 °C. No final de cada dia era feito a pesagem de aproximadamente 400 g de fezes, em balança analítica. As amostras foram submetidas à lavagem em peneira de 4 mm, os grãos de soja foram coletados manualmente, pesados, colocados em sacos plástico e armazenados em freezer a -20 °C, para posteriores análises bromatológicas.

No grão de soja presente nas fezes, foram analisados os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE) e de proteína bruta (PB) de acordo com as metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002). O teor de proteína bruta (PB) foi obtido pela multiplicação do teor de nitrogênio total por 6,25.

5.6 BALANÇO DE ENERGIA

Para obtenção do consumo de energia bruta e realização do cálculo da eficiência do uso de energia consumida, as amostras de silagem, ingredientes e concentrados foram analisadas quanto ao seu teor de energia bruta em bomba calorimétrica, de acordo com Harvatine e Allen (2006). O consumo de energia digestível (CED) foi obtido por meio do coeficiente de digestibilidade das rações experimentais e do consumo de energia bruta, de acordo com os valores de energia obtidos para os ingredientes e a silagem de milho (HARVATINE; ALLEN, 2006).

O consumo de energia líquida (CEL), os valores de energia líquida de produção (EL_P), energia líquida de ganho (EL_g), e mudança de peso de corpo vazio (MPCV) foram calculados de acordo com as equações do NRC (2001), a seguir: $CEL \text{ (Mcal/dia)} = 0,703 \times EM \text{ (consumo)} - 0,19 + \{[(0,097 \times EM \text{ (consumo)} + 0,19)/97] \times [EE - 3]\}$; $EM \text{ (consumo)} = 1,01$

$\times (ED \text{ (consumo)} - 0,45] + 0,0046 \times (EE - 3)$ onde: EM = energia metabolizável; EE = extrato etéreo; ED = energia digestível.

Os valores de energia metabolizável (EM) foram obtidos pela seguinte fórmula: EM (Mcal/Kg) = $[1,01 * \{(\%CNF/100) * 4,2 + (\%FDN/100) * 4,2 + (\%PB/100) * 5,6 + (\%AG/100) * 9,4 - 0,3\} - 0,45] + 0,0046 * (EE - 3,0)$.

Para o cálculo de energia digestível (ED) dos suplementos de gordura com e sem glicerol foram utilizadas as seguintes fórmulas: Com glicerol ED (Mcal/dia) = $[9,4 * DAG * 0,9 * (EE/100) + (4,3 * 0,1 * (EE/100))]$; Sem glicerol ED (Mcal/dia) = $9,4 * DAG * (EE/100)$, onde: DAG = digestibilidade dos ácidos graxos.

Os valores de energia líquida de produção (EL_p) foram calculados segundo a fórmula: EL_p (Mcal/dia) = produção de leite (Kg) $\times (0,0929 \times G\% + 0,0563 \times pv\% + 0,0395 \times \text{lactose}\%)$ onde: G%=teor de gordura no leite; pv=teor de proteína verdadeira do leite.

A mudança de peso de corpo vazio (MPCV) foi calculada a partir do peso vivo (PV) onde: PCV = $0,817 * PV$. A energia líquida de ganho foi calculada através da fórmula: EL_g = $1,42 EM - 0,174 * EM + 0,0122 * EM * 1,65$.

A eficiência de utilização de energia foi calculada de acordo com Harvatine e Allen (2006) da seguinte forma: Eficiência produção de leite = $EL \text{ (consumo)} - EL \text{ (ganho PV)} - EL \text{ (leite)}$; Eficiência lactação = $EL \text{ produção de leite} + EL \text{ ganho de PV} / \text{Consumo de ED}$.

5.7 BALANÇO DE NITROGÊNIO

Para o cálculo de balanço de nitrogênio foi realizada a determinação da concentração de creatinina na urina de acordo com metodologia descrita por Valadares, Broderick e Valadares Filho (1999) e Rennó (2003). As amostras *spot* de 50 mL de urina foram obtidas de todas as vacas no 19º dia de cada período experimental, quatro horas após a alimentação matinal, durante micção estimulada por massagem na vulva. As alíquotas de 50 mL de urina (amostra *spot*) foram filtradas e alíquotas de 10 mL foram diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico e foram armazenadas a -15 °C para posteriores análises de ácido úrico e alantoína. Uma amostra de urina pura foi armazenada para determinação dos compostos nitrogenados totais, de uréia e creatinina.

As concentrações de creatinina foram determinadas por meio de kits comerciais (Laborlab®), utilizando reação enzimática calorimétrica cinética em aparelho SBA-200 CELM®. Para a realização dessa análise, 100 µL de urina foram diluídos em 4.900 µL de água deionizada. Os resultados obtidos foram calculados pela seguinte fórmula: Creatinina (mg/dL) = creatinina (mg/dL) * 0,020 * 50 (BIGGS; COPPER, 1961).

O volume urinário total diário foi estimado dividindo-se as excreções urinárias diárias de creatinina pelos valores observados de concentração de creatinina na urina das amostras *spot*, segundo Oliveira et al. (2001). A excreção urinária diária de creatinina foi estimada a partir da proposição de 24,05 mg/Kg de peso vivo (PV) (CHIZZOTTI, 2004). Dessa forma, com a excreção média diária de creatinina e a concentração de creatinina (mg/dL) na amostra *spot* de urina, foi estimado o volume total diário de urina, em litros por vaca/dia, para o cálculo do balanço de nitrogênio.

O consumo de nitrogênio foi determinado retirando-se o valor de conversão de nitrogênio total das amostras para obtenção do valor de proteína bruta (6,25), obtendo-se a quantidade em gramas de nitrogênio consumida. O mesmo cálculo foi realizado com os valores de proteína bruta das fezes obtendo-se a excreção total de nitrogênio em g/Kg MS.

O nitrogênio total das amostras de urina e leite foram determinados de acordo com as metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002), onde a quantidade em gramas de nitrogênio para cada 100 mL de urina ou leite foi obtido dividindo-se o valor de proteína bruta das amostras pelo fator 6,25 para as amostras de urina e do fator 6,38 para as amostras de leite.

O balanço de nitrogênio foi obtido subtraindo o total de nitrogênio em gramas consumido pelos valores de nitrogênio na urina, fezes e leite, obtendo-se os valores de nitrogênio retido em gramas e em porcentagem de nitrogênio total.

5.8 FERMENTAÇÃO RUMINAL

Para avaliação dos parâmetros de fermentação ruminal, as amostras de líquido ruminal foram coletadas com a utilização de sonda esofágica três horas após a alimentação da manhã. Logo após a coleta foram determinados os valores de pH ruminal utilizando potenciômetro. As amostras foram armazenadas em caixas térmicas e encaminhadas ao Laboratório de Bromatologia da FMVZ-USP.

No laboratório as amostras foram centrifugadas a 2.000 x g por 15 minutos, 1 mL do sobrenadante foi colocado em tubo de ensaio e adicionando-se 0,2 mL de ácido fórmico P.A., arrolhado e identificado e armazenado em congelador a -20 °C para determinação de ácidos graxos de cadeia curta. Da mesma amostra 2 mL do sobrenadante foi pipetado e armazenado em tubos de ensaio contendo 1 mL de ácido sulfúrico a 1 N, para posterior determinação da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃).

A metodologia utilizada para análise de ácidos graxos de cadeia curta foi preconizada por Erwin, Marco e Emery (1961), sendo utilizado cromatógrafo a gás (Modelo 9001 Gas Chromatograph, Marca Finnigan) equipado com coluna de vidro de 02 metros de comprimento x 1/4, empacotada com 80/120 Carbopack B-DA/4% Carbowax 20M. Os gases utilizados foram o nitrogênio como gás de arraste na vazão de 25 mL/minuto, oxigênio como gás comburente na vazão de 175 mL/minuto, e hidrogênio como gás combustível na vazão de 15 mL/minuto. As temperaturas utilizadas do vaporizador foi de 220 °C, do detector de ionização de chamas de 250 °C e da coluna de separação de 195 °C por 3 minutos, aumentando 10 °C/minuto até 200 °C.

Soluções padrão a 0,1 Normal de ácido acético, propiônico e butírico foram preparadas e padronizadas com hidróxido de potássio (KOH) 0,1 Normal, a fim de produzir solução padrão de ácidos graxos voláteis de concentração conhecida. As determinações foram realizadas injetando-se 1 µL de amostra em cromatógrafo integrado a computador, que processava os cálculos de quantificação, utilizando-se do software BORWIN versão 1.21 para cromatografia.

O nitrogênio amoniacal (N-NH₃) foi determinado pelo método de ácido salicílico. Foram adicionados aos tubos contendo amostras de líquido ruminal e ácido sulfúrico a 1 N, 1 mL de tungstato de sódio a 10%, e posteriormente as amostras foram centrifugadas a 1.200 x g durante 15 minutos. Em seguida foram pipetados 25 µL do sobrenadante a um tubo limpo e neste adicionados 5 mL do reagente fenol e 5 mL de hipoclorito.

Os tubos foram agitados para homogeneização das amostras e colocados em banho-maria a 37 °C durante 15 minutos adquirindo coloração azul. Após resfriamento as amostras foram analisadas em espectrofotômetro quanto a sua absorbância e os resultados obtidos foram utilizados em equação de regressão para calcular a concentração em mg/dL, onde: Concentração de N-NH₃ (mg/dL) = Absorbância - (a)/b; b= R² da equação elaborada a partir do padrão.

5.9 SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA

As análises para determinação da síntese de proteína microbiana foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do VNP-FMVZ-USP. As amostras utilizadas para análise de alantoína no leite foram coletadas de dois dias alternados, sendo provenientes das duas ordenhas diárias. Uma alíquota de 10 mL de leite foi diluída com 5 mL de ácido tricloroacético a 25%, sendo filtrada em papel-filtro e congelada para posterior determinação dos níveis de uréia e alantoína no leite desproteínizado. Aliquotas de 50 mL de urina (amostra *spot*) foram obtidas de todas as vacas no 16º dia do período experimental, aproximadamente 4 horas após a alimentação, durante micção estimulada por massagem na vulva. A urina foi filtrada e alíquotas de 10 mL foram diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico. Uma amostra de urina pura foi armazenada para determinação dos compostos nitrogenados totais, de uréia e creatinina.

As concentrações de creatinina foram determinadas por meio de kits comerciais (Laborlab®), utilizando reação enzimática calorimétrica cinética em aparelho SBA-200 CELM®. O volume urinário total diário foi estimado dividindo-se as excreções urinárias diárias de creatinina pelos valores observados de concentração de creatinina na urina das amostras *spot*, segundo Oliveira et al. (2001).

A excreção urinária diária de creatinina foi estimada a partir da excreção média diária, estabelecida de 24,05 mg/Kg de peso vivo para vacas leiteiras (CHIZZOTTI, 2004). Dessa forma, com a excreção média diária de creatinina e a concentração de creatinina (mg/dL) na amostra *spot* de urina, foi estimado o volume total diário de urina, em litros por vaca/dia. Os níveis de alantoína na urina e os de ácido úrico na urina e alantoína do leite foram determinados pelo método colorimétrico, conforme metodologia de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen e Gomes (1992).

A excreção total de derivados de purinas foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina e da quantidade de alantoína excretada no leite, expressas em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (DP, mmol/dia), por meio da equação $Pabs = (DP - 0,236 * PV^{0,75}) / 0,84$, em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina e $0,236 * PV^{0,75}$, a excreção endógena de derivados de purina (ORELLANA-BOERO; BALCELLS; MARTÍN-ORÚE, 2001).

Foram avaliadas também as purinas absorvidas, considerando-se a excreção endógena de $0,512 \cdot PV^{0,75}$ e a recuperação de 0,70 encontradas por González-Ronquillo, Balcells e Guada (2003). A síntese ruminal de compostos nitrogenados (N_{mic} , gN/dia) foi calculada com base nas purinas absorvidas (P_{abs} , mmol/dia), utilizando-se a equação (CHEN; GOMES, 1992): $N_{mic} = (70 \cdot P_{abs}) / (0,83 \cdot 0,134 \cdot 1.000)$, em que 70 é o conteúdo de N nas purinas (mgN/mol); 0,134, a relação N purina: N total nas bactérias (VALADARES; BRODERICK; VALADARES FILHO, 1999); e 0,83, a digestibilidade intestinal das purinas microbianas.

5.10 PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE

As vacas foram ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia, às 6:30 e às 15:30 horas, sendo a produção de leite registrada diariamente durante todo o período experimental. A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura (PLC) segundo fórmula de Sklan et al. (1992), onde $PLC = (0,432 + 0,1625 \cdot \text{teor de gordura do leite}) \cdot \text{Kg de leite}$. Foi determinado o teor de gordura e proteína do leite.

As amostras utilizadas para análise da composição do leite foram obtidas no 16º de cada período experimental, sendo cada amostra proveniente das duas ordenhas diárias. Foram determinados também os teores de gordura, proteína e lactose. Para a determinação da gordura no leite foram utilizadas amostras à fresco, segundo a metodologia descrita por Gerber (COELHO; ROCHA, 1977) no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal do VNP-FMVZ-USP. Também foram realizadas as análises no leite de nitrogênio total (NT) e lactose utilizando o equipamento LACTOSCAN no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP. Para determinação da uréia e nitrogênio uréico no leite, as amostras de leite foram desproteinizadas da mesma forma que as amostras utilizadas na análise da alantoína. As análises da concentração de uréia no leite desproteinado foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP, por meio de kits comerciais (Laborlab® e CELM®). A concentração de nitrogênio uréico no leite foi determinada indiretamente por meio da seguinte fórmula: Nitrogênio uréico = uréia (mg/dL)/2,14

5.11 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE

As amostras de leite utilizadas para avaliar perfil de ácidos graxos foram obtidas no 16º dia de cada período experimental, cada uma das amostras proveniente de duas ordenhas diárias. Para o processo de extração, as amostras foram centrifugadas a 17.800 x g por 30 minutos a 4 °C e próximo a 19.300 x g por 20 minutos a 4 °C, de acordo com Feng, Lock e Garnsworthy (2004). A gordura separada (300-400 mg) foi metilada e os ésteres metílicos foram formados de acordo com Kramer, Fellner e Dugan (1997). Dois padrões internos C18:0 e C19:0 foram utilizados para corrigir as perdas durante o processo de metilação.

A extração da gordura dos alimentos foi realizada de acordo com o método de Folch, Lees e Sloane Stanley (1957) e de metilação realizada de acordo com Kramer, Fellner e Dugan (1997). Os lipídeos foram extraídos por homogeneização da amostra com uma solução de clorofórmio e metanol 2:1. Em seguida os lipídeos foram isolados após a adição de solução de NaCl a 1,5%.

Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (GC Shimatzu 2010, com injeção automática), usando coluna capilar SP-2560 (100 m × 0,25 mm de diâmetro com 0,02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). A temperatura inicial foi de 70 °C por 4 minutos (13° C/minuto) até chegar a 175 °C, mantendo por 27 minutos. Depois, um novo aumento de 4 °C/minuto, foi iniciado até 215 °C, mantendo durante 31 minutos. Hidrogênio (H₂) foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 40 cm/s. Durante o processo de identificação foram utilizados quatro padrões: standard C4-C24 de ácidos graxos (Supelco ® TM 37), ácido vacênico C18:1 *trans*-11 (V038-1G, Sigma®), C18 CLA:2 *trans*-10, *cis*-12 (UC-61M 100mg), CLA e C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (UC-60M 100mg), (NU-CHEK-PREP EUA ®) para identificação dos ácidos graxos que são formados durante a biohidrogenação de ácidos graxos insaturados.

5.12 PARÂMETROS SANGUÍNEOS

As coletas de sangue foram realizadas no 19º dia de cada período experimental por punção da veia e/ou artéria coccígea, anteriormente ao fornecimento das rações no período da manhã. As amostras foram coletadas em tubos vacuolizados (*vacutainer*) de 10 mL para

dosagem dos parâmetros sanguíneos glicose, colesterol total, colesterol-HDL, proteínas totais, albumina, uréia e nitrogênio uréico, as enzimas aspartato aminotransferase (AST) gama glutamil transferase (GTA) e fosfatase alcalina (FA), no soro, e tubos contendo fluoreto de sódio para dosagem de glicose no plasma.

Imediatamente após coleta as amostras foram coletadas refrigeradas e centrifugadas a 2000 x g durante 15 minutos, para a separação do soro ou plasma. O centrifugado obtido foi transferido para tubetes plásticos, identificados e armazenados a -20 °C, até o procedimento das análises laboratoriais.

As análises das concentrações dos parâmetros sanguíneos foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP, por meio de kits comerciais (Laborlab® e CELM®) que utilizam método enzimático colorimétrico de ponto final, sendo a leitura realizada em analisador automático de bioquímica sanguínea (Sistema de Bioquímica Automático SBA-200 CELM®).

5.13 AVALIAÇÃO DO ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL E PESO CORPORAL

O escore de condição corporal (ECC) e o peso corporal foram avaliados no sétimo dia de adaptação e no final de cada período experimental, para avaliação da variação de peso. O peso dos animais foi correspondente à média de duas pesagens sucessivas, feitas antes do fornecimento das alimentações e após as ordenhas durante dois dias. Para o cálculo da variação de ECC e de peso corporal, foram considerados os pesos do sétimo dia de adaptação e do final de cada período experimental. As mensurações do ECC foram realizadas segundo metodologia proposta por Edmonson et al. (1989).

5.14 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC 2004), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE.

Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED de acordo com a seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + Q_i + A_j + P_y + T_k + e_{ijk}$$

onde: Y_{ijk} = variável dependente, μ = media geral, Q_i = efeito de quadrado ($i = 1$ to 3), A_j = efeito de animal ($j = 1$ to 12), P_y = efeito do período ($y = 1$ to 4), T_k = efeito do tratamento ($k = 1$ to 4), e e_{ijk} = erro. Efeito aleatório $A_j(Q_i)$ = interação animal quadrado. Os graus de liberdade calculados foram realizados de acordo com o método satterthwaite (ddfm = *satterth*).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial pelo comando PROC MIXED do SAS, versão 9.0 (SAS, 2009), adotando-se nível de significância de 5%. As médias foram ajustadas pelo LSMEANS e analisadas pelo teste de Tukey ajustado do PROC MIXED.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 CONSUMO E DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL

Os resultados referentes ao consumo diário de matéria seca e nutrientes, de acordo com as rações experimentais, podem ser observados na (Tabela 7). Observou-se efeito linear decrescente ($P < 0,05$) no consumo de matéria seca, de forma que os animais submetidos à ração contendo 24% de grão de soja apresentaram menor consumo de matéria seca entre as rações experimentais, e os animais submetidos à dieta C e G8 e G16 não diferiram entre si. Possivelmente essa redução pode ser justificada em parte pela aceitabilidade da dieta G24 e pelos altos teores de extrato etéreo nas mesmas, pois o consumo de grão de soja dos animais submetidos à dieta G24 chegou a atingir 6 a 7 Kg/vaca/dia para esta ração experimental.

Foi observado efeito linear crescente ($P < 0,05$) para o consumo de extrato etéreo, e maior consumo deste nutriente para a dieta G24. Estes resultados são esperados em função do aumento dos teores de extrato etéreo quando são adicionados grão de soja nas rações. O consumo de carboidratos não fibrosos e carboidratos totais apresentaram um efeito linear decrescente ($P < 0,05$) sendo que os animais submetidos à dieta G24 apresentaram menor consumo. Isto pode ser explicado pelo menor consumo de matéria seca dos animais submetidos a esta dieta e também pelas quantidades de CNF e CT nas dietas, ou seja, à medida que aumentavam os níveis de inclusão de grão de soja, foi diminuída a quantidade de fubá de milho (fonte expressiva de CNF e CT), conseqüentemente nas dietas experimentais com maiores níveis de grão de soja eram compostas por menores teores de CNF e CT. O consumo de matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro e nutrientes digestíveis totais foi semelhante ($P > 0,05$) entre as rações experimentais.

Allen (2000) avaliou vários experimentos que utilizaram rações contendo diferentes fontes de gordura para vacas em lactação, e observou que rações contendo sais de cálcio de ácidos graxos apresentaram maior redução no consumo em relação a outras fontes de gordura, como óleos, sementes de oleaginosas e gordura animal. Moallem et al. (2007) também observaram menor consumo para vacas suplementadas com sais de cálcio de ácidos graxos em relação a outras fontes de gordura.

Tabela 7 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) do consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais ¹				Média	EPM	P ²	
	C	G8	G16	G24			L	Q
<i>Consumo Kg/dia</i>								
Matéria Seca	25,30 ^a	24,93 ^{ab}	24,75 ^{ab}	23,84 ^b	24,71	0,57	0,001	0,356
Matéria Orgânica	22,99	23,07	22,94	22,14	22,79	0,53	0,132	0,270
Proteína Bruta	4,24	4,21	4,13	3,95	4,13	0,09	0,012	0,332
Extrato Etéreo	0,88 ^c	1,15 ^{bc}	1,44 ^{ab}	1,70 ^a	1,29	0,06	<0,001	0,946
Fibra Detergente Neutro	8,07	8,15	8,26	7,91	8,10	0,18	0,570	0,153
Carboidrato Não Fibroso	11,68 ^a	11,46 ^a	11,00 ^{ab}	10,41 ^b	11,14	0,30	0,001	0,483
Carboidratos Totais	17,87 ^a	17,70 ^{ab}	17,37 ^{ab}	16,48 ^b	17,36	0,42	0,007	0,315
NDT ³	18,18	18,43	18,61	18,34	18,39	0,48	0,636	0,410
<i>Mcal/dia</i>								
Energia Líquida lactação	42,38	43,32	44,03	43,74	43,37	1,06	0,141	0,396
<i>Coefficiente de Digestibilidade %</i>								
Matéria Seca	68,89	68,45	70,28	68,72	69,08	0,48	0,706	0,480
Matéria Orgânica	70,80	70,16	71,99	70,71	70,92	0,46	0,660	0,687
Proteína Bruta	75,70 ^a	72,26 ^{ab}	72,18 ^{ab}	68,27 ^b	72,10	0,78	0,001	0,854
Extrato Etéreo	86,28	84,80	84,02	84,86	84,99	0,43	0,216	0,206
Fibra Detergente Neutro	64,36	65,63	68,72	67,31	66,51	0,82	0,074	0,366
Carboidrato Não Fibroso	76,34	75,80	77,30	76,86	76,58	0,65	0,494	0,958
Carboidratos Totais	68,87	68,69	70,94	69,84	69,59	0,49	0,159	0,570
NDTobs ⁴	75,92	75,52	76,18	76,43	76,01	0,21	0,205	0,404
<i>Consumo % PV⁵</i>								
Matéria Seca	4,48	4,47	4,46	4,31	4,43	0,08	0,147	0,363
Fibra Detergente Neutro	1,36	1,38	1,39	1,33	1,37	0,05	0,635	0,130

¹Controle (C); G8, G16 e G24 se referem a inclusão de, respectivamente, 8, 16 e 24% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca; ²Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed; ³NDT: Nutrientes Digestíveis Totais; ⁴NDTobs: NDT observado; ⁵PV: peso vivo

Entretanto, quando se avalia respostas de consumo com a suplementação com diferentes fontes de gordura, alguns estudos observaram manutenção e, em alguns casos, aumento do consumo, sendo esses resultados atribuídos ao baixo incremento calórico da gordura em períodos de estresse calórico, ou pela redução na produção de propionato quando a fonte de gordura substituiu grãos nas rações (NRC, 2001).

Quando são avaliadas diferentes fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras, diferentes respostas são esperadas estando relacionadas ao tipo e nível de inclusão do suplemento de gordura na ração. Para rações contendo de 5 a 6% de extrato etéreo na matéria seca, segundo o NRC (2001), a adição de óleo de sementes e ácidos graxos parcialmente

hidrogenados reduz o consumo, entretanto quando se utiliza semente de oleaginosas como o grão de soja, esta redução no consumo pode não ser observada.

Mielke e Shingoethe (1981) avaliaram dietas com farelo de soja, grão de soja cru e grão de soja tostado na alimentação de vacas primíparas em início de lactação e foi utilizada silagem de milho como maior parte do volumoso, associada a feno de alfafa, a quantidade de grão de soja consumida foi de 2,19 e 2,14 Kg/vaca/dia e não foi observado efeito entre as dietas utilizadas no consumo de matéria seca e de proteína bruta.

De forma semelhante Bernard (1990) não encontrou diferença significativa no consumo de MS quando comparou o grão de soja cru com o tostado e com farelo de soja, incluídos em 9,4% na matéria seca da ração, juntamente com silagem de milho, em uma relação V/C de 50:50, com vacas em início de lactação com produção média de 32 Kg/leite/dia, com um consumo médio de matéria seca de 21,4 Kg/dia, resultados próximos aos deste experimento.

Deresz, Fernandes e Matos (1996), utilizando vacas em início de lactação e com média de produção de leite de 28,0 Kg/dia, incluíram 0, 12 e 24% de grão de soja cru na matéria seca da dieta, e utilizaram silagem de milho como volumoso em uma relação V/C de 60:40, os autores não encontraram diferença no consumo de matéria seca entre as dietas experimentais, e os resultados são próximos dos encontrados neste estudo.

Duarte et al. (2005) não observaram alteração no consumo da matéria seca e fibra, de vacas de média de 21 Kg/dia/leite, com inclusão de 15% de grão de soja na matéria seca da dieta, e com silagem de milho como volumoso basal na proporção V/C de 60:40, sendo que os animais consumiram cerca de 2,53 Kg de grão de soja/dia.

Embora existam estudos sobre o uso de fontes de gordura na ração de vacas em lactação, os mecanismos pelo qual esta suplementação influencia o consumo ainda não estão devidamente elucidados, mas há fortes evidências de que o efeito da gordura sobre a fermentação ruminal, motilidade intestinal, aceitabilidade da dieta com suplemento, liberação de hormônios intestinais, mecanismos regulatórios que controlam a ingestão de alimentos e a capacidade limitada dos ruminantes de oxidar os ácidos graxos sejam as principais razões da inibição de consumo (ALLEN, 2000).

Analisando os resultados de consumo deste estudo e da literatura, observa-se que a utilização de grão de soja na alimentação de vacas leiteiras não influencia o consumo de matéria seca, senão em função de altos níveis de grão de soja e, proporcionalmente de extrato etéreo.

Os resultados de digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes podem ser observados na (Tabela 7). Não houve diferença ($P>0,05$) na digestibilidade aparente total da matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo, carboidratos não fibrosos, carboidratos totais, fibra em detergente neutro e nos valores de nutrientes digestíveis totais observados para as rações experimentais. Houve redução ($P<0,05$) no coeficiente de digestibilidade aparente total da proteína bruta, e menor coeficiente de digestibilidade para a dieta G24, e as demais dietas C, G8 e G16 não diferiram entre si, este resultado pode ser explicado pela alta taxa de passagem dos animais deste experimento devido a fase de lactação e desempenho produtivo, e pelo maior consumo de grão dos animais submetidos à dieta G24, por volta de 5,69 Kg de matéria seca de grão de soja por dia (Tabela 9). E também como apresentado na (Tabela 9) os animais submetidos a esta dieta tiveram uma maior porcentagem de excreção de grão de soja nas fezes, 7,02% da matéria natural, totalizando uma excreção de 1,03 Kg/dia de matéria seca de grão de soja nas fezes, o que explica este menor coeficiente de digestibilidade da proteína bruta, e também pode ser verificado que a porcentagem de proteína bruta do grão presente nas fezes é a mesma do grão in natura, ou seja, não há um aproveitamento deste nutriente ao longo do trato gastrointestinal.

Alguns autores têm observado redução na digestibilidade da fibra quando fontes lipídicas são adicionadas às rações, e a magnitude de redução está relacionada não só à quantidade, mas principalmente ao tipo de ácido graxo presente no suplemento, sendo que lipídios ricos em ácidos graxos insaturados tendem a provocar maior depressão na digestibilidade (DOREAU; CHILLIARD, 1997; LEITE, 2006). Entretanto, quando esta fonte de gordura é fornecida na forma de semente de oleaginosas estes efeitos na digestibilidade podem ser amenizados ou mesmo não existirem devido a lenta liberação dos ácidos graxos no ambiente ruminal, como pode ser demonstrado no presente experimento.

Havartine e Allen (2006) avaliaram o efeito da suplementação de ácidos graxos saturados, insaturados e a mistura de ambos nas rações de vacas leiteiras sobre a digestibilidade aparente total dos nutrientes. As rações continham cerca de 8,3% de ácidos graxos na matéria seca. Estes autores não observaram efeito das fontes de ácidos graxos sobre a digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, fibra em detergente neutro, e amido.

Teoricamente, o uso de grão de soja proporcionaria menor efeito da gordura sobre a digestibilidade de nutrientes por proporcionar lenta liberação de lipídios no rúmen, não superando a capacidade de hidrogenação dos microrganismos ruminais e impedindo uma possível perda de digestibilidade de fibra pelo efeito negativo que gorduras insaturados

prontamente disponíveis no rúmen podem causar nas bactérias fibrolíticas (COPPOCK; WILKS, 1991; PALMQUIST, 1991), resultado obtido no presente estudo.

Analisando os resultados do presente estudo e da literatura, observa-se que são necessários mais estudos que avaliem diferentes fontes de gordura em condições específicas de fornecimento. Parece haver interações dos resultados obtidos na avaliação da digestibilidade dos nutrientes entre a fonte de gordura e nível de fornecimento, bem como do volumoso utilizado e das características das vacas, como o nível de produção de leite e fase de lactação.

6.2 GRÃO DE SOJA NAS FEZES

Não houve efeito ($P>0,05$) da composição das fezes para matéria orgânica, fibra em detergente neutro e carboidratos não fibrosos entre as dietas experimentais (Tabela 8). Houve efeito linear crescente ($P<0,05$) para matéria seca (Tabela 8), sendo que os animais submetidos à ração G24 apresentaram maiores valores, e as dietas C, G8 e G16, não diferiram entre si. Estes resultados podem ser explicados pela maior quantidade de grão de soja presente nas fezes dos animais submetidos a esta dieta.

Também foi observado efeito linear crescente ($P<0,05$) para proteína bruta (Tabela 8) onde os animais da ração G24 apresentaram maiores valores, e as demais não diferiram entre si. Este efeito pode ser explicado pelo aumento da inclusão de grãos de soja nas dietas, pois a mediada que se aumentava os níveis de inclusão aumentava a excreção de grão nas fezes, levando assim a um aumento da proteína bruta da mesma. Entretanto apenas a dieta G24 apresentou menor coeficiente de digestibilidade da proteína bruta, demonstrando que para animais com esta produção e fase de lactação a inclusão de até 16% de grão de soja integral na matéria seca da dieta não influencia a digestibilidade da proteína bruta da dieta.

Observou-se também efeito linear crescente ($P<0,05$) para o teor de extrato etéreo presente nas fezes (Tabela 8). À medida que foram aumentados os níveis de inclusão de grão de soja nas dietas, aumentou-se os teores de extrato etéreo, e conseqüentemente o teor de extrato etéreo presente nas fezes. Entretanto, não foi observado diferenças na digestibilidade do extrato etéreo para as dietas experimentais, o que demonstra o ótimo potencial de utilização do grão de soja integral para vacas em lactação como fonte de proteína e gordura.

Também foi observado efeito linear decrescente ($P < 0,05$) para carboidrato total, sendo que os animais submetidos à dieta controle apresentaram os maiores valores, mas não diferiram dos animais submetidos à dieta G8. Os animais submetidos às dietas G16 e G24 apresentaram menores valores, mas não diferiram entre si, e também não diferiram dos animais da dieta G8 (Tabela 8). Estes podem ser explicados pela quantidade de CT e CNF presente nas dietas, ou seja, à medida que aumentavam os níveis de inclusão de grão de soja, foi diminuída a quantidade de fubá de milho (fonte expressiva de CNF) e de CT, conseqüentemente nas dietas experimentais com maiores níveis de grão de soja eram compostas por menores teores de CNF e CT.

Tabela 8 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) da composição das fezes em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais ¹				Média	EPM	P^2	
	C	G8	G16	G24			L	Q
Matéria Seca	16,86 ^b	16,74 ^b	17,62 ^b	19,33 ^a	17,64	0,31	0,001	0,070
Matéria Orgânica	86,48	87,49	87,01	87,12	87,02	0,34	0,607	0,481
Proteína Bruta	13,12 ^b	14,88 ^b	15,68 ^{ab}	16,76 ^a	15,11	0,31	<0,001	0,458
Extrato Etéreo	1,56 ^c	2,23 ^{bc}	3,11 ^{ab}	3,34 ^a	2,56	0,14	<0,001	0,308
Fibra Detergente Neutro	34,27	35,89	33,78	34,24	34,54	0,74	0,589	0,523
Carboidrato não Fibroso	37,52	34,47	34,41	32,76	34,79	0,99	0,037	0,639
Carboidrato Total	71,78 ^a	70,37 ^{ab}	68,20 ^b	67,01 ^b	69,34	0,49	<0,001	0,899

¹Controle (C); G8, G16 e G24 se referem a inclusão de, respectivamente, 8, 16 e 24% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca, ² Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed

Não foi observado efeito ($P > 0,05$) para a composição química-bromatológica do grão de soja presente nas fezes para matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo, FDN, CNF e CT (Tabela 9). Entretanto, vale observar e destacar o teor de extrato etéreo do grão presente nas fezes, já que o grão in natura apresenta valores de 19 a 22% de extrato etéreo, e foi verificado que o grão presente nas fezes apresenta valores médios de extrato etéreo de 9,74%, o que indica o potencial de proteção e utilização de ácidos graxos do grão de soja, sendo que mesmo no grão que sai nas fezes houve aproveitamento dos ácidos graxos presentes no mesmo, e que o grão in natura de certa forma funcionou como proteção natural.

Tabela 9 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) do consumo e excreção de grão de soja e composição químico-bromatológica do grão de soja nas fezes em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais ¹				Média	EPM	<i>P</i> ²	
	C	G8	G16	G24			L	Q
<i>Consumo</i>								
Matéria Seca (Kg/dia)	-	2,14 ^c	3,68 ^b	5,69 ^a	3,79	0,27	<0,001	0,335
Matéria Natural (Kg/dia)	-	2,44 ^c	4,18 ^b	6,50 ^a	4,37	0,27	<0,001	0,335
<i>Excreção</i>								
Matéria Natural (%)	-	3,54 ^b	5,76 ^a	7,02 ^a	5,37	0,36	<0,001	0,378
Matéria Seca (%)	-	7,84 ^b	12,55 ^a	14,05 ^a	11,41	0,80	0,004	0,181
Matéria Natural (Kg/dia)	-	1,70 ^b	2,38 ^{ab}	2,74 ^a	2,26	0,18	0,002	0,534
Matéria Seca (Kg/dia)	-	0,63 ^b	0,91 ^a	1,03 ^a	0,85	0,06	0,002	0,453
Matéria Natural (Kg/dia)	-	0,69 ^b	0,99 ^a	1,13 ^a	0,94	0,07	0,001	0,416
<i>Composição químico-bromatológica</i>								
Matéria Seca	-	37,22	38,04	38,03	37,71	0,37	0,337	0,547
Matéria Orgânica	-	96,74	96,74	96,57	96,69	0,07	0,159	0,377
Proteína Bruta	-	43,65	43,86	44,53	43,97	0,21	0,066	0,557
Extrato Etéreo	-	9,25	10,02	10,10	9,74	0,32	0,112	0,434
Fibra Detergente Neutro	-	31,56	30,99	31,00	31,35	0,75	0,662	0,796
Carboidrato não Fibroso	-	12,24	11,78	10,87	11,62	0,75	0,362	0,859
Carboidrato Total	-	43,83	42,87	41,94	42,97	0,45	0,028	0,990

¹ Controle (C); G8, G16 e G24 se referem a inclusão de, respectivamente, 8, 16 e 24% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca, ² Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed

Em relação ao consumo de grão de soja integral na matéria seca e matéria natural, foi observado efeito linear crescente ($P < 0,05$), que é explicado pela utilização de níveis crescentes de grão nas dietas experimentais, ou seja, à medida que se aumentava a inclusão de grão de soja nas dietas aumentava-se também o consumo do mesmo.

Também houve efeito linear crescente ($P < 0,05$) para a excreção nas fezes de grão de soja em porcentagem e em Kg por dia, na matéria seca e matéria natural, sendo que os animais submetidos à dieta G8 apresentaram menores valores que os submetidos às dietas G16 e G24, e estas dietas não diferiram entre si. Estes resultados podem ser explicados pela categoria dos animais do presente estudo, já que foram utilizadas vacas em início de lactação e de alta produção de leite, e que conseqüentemente apresentam alto consumo de matéria seca e taxa de passagem, assim sendo à medida que se aumenta os níveis de inclusão de grão de soja nas dietas destes animais pode-se aumentar a taxa de excreção do grão, sendo necessário a avaliação de outros parâmetros, como coeficiente de digestibilidade, consumo de matéria

seca e desempenho produtivo para se ter uma real avaliação do potencial de utilização do grão de soja integral para vacas de leite.

Avaliando o conjunto de dados relacionados à digestão do presente estudo pode-se confirmar o potencial de utilização do grão de soja na alimentação de vacas leiteiras nesta fase de lactação, e com este desempenho produtivo.

6.3 FERMENTAÇÃO RUMINAL

Não houve efeito ($P>0,05$) das rações experimentais sobre os valores de pH ruminal no tempo de coleta avaliado (Tabela 10), e os valores encontrados foram próximos às médias consideradas normais, de 5,9 a 7,0, para otimização da taxa de digestão ruminal e da degradação da parede celular da fibra sugeridas por Furlan, Macari e Faria Filho (2006). A concentração de $N-NH_3$ foi maior ($P<0,05$) para os animais que receberam a dieta controle em relação as dietas com inclusão do grão de soja (Tabela 10), que não diferiram entre si. Estes resultados são esperados devido à maior porcentagem de uréia presente na matéria seca da dieta controle, o que pode levar a maior concentração de $N-NH_3$ três horas após a alimentação. Além disso, o grão de soja integral é uma fonte protéica mais resistente a degradação ruminal que a uréia, proporcionando, nas dietas onde houve a inclusão do grão, níveis menores de $N-NH_3$. No entanto, a diminuição dos níveis de $N-NH_3$ encontrados nas dietas com grão de soja não implicaram em prejuízos aos microorganismos ruminais, o que poderia alterar a fermentação da fibra.

Também, vale ressaltar um possível efeito depressor dos lipídeos insaturados sobre a população de bactérias gram-positivas fermentadoras obrigatórias de aminoácidos para suprir suas necessidades energéticas e protéicas (RUSSELL; STROBEL; CHEN, 1988; CHEN; RUSSELL, 1989). Ainda não foi demonstrado o efeito direto dos lipídeos sobre estas bactérias, mas uma vez que os ácidos graxos insaturados apresentam propriedades similares aos ionóforos, tais como natureza apolar, inibição das bactérias ruminais ao nível de membrana e alteração dos parâmetros de fermentação (CHALUPA et al., 1986), pode se chegar a esta conclusão.

Não houve diferença na porcentagem de ácido acético no rúmen entre as dietas experimentais (Tabela 10). Foi encontrado efeito linear crescente ($P<0,05$) para a porcentagem de ácido propiônico (Tabela 10), sendo que os animais submetidos à ração G24

apresentaram a maior porcentagem de ácido propiônico, e as demais rações não diferiram entre si. Com relação à porcentagem de ácido butírico houve efeito linear decrescente ($P<0,05$), sendo que os animais que receberam a ração G24 apresentaram menor porcentagem deste ácido graxo (Tabela 10), resultado este que é explicado pelo menor consumo de matéria seca obtido aos animais submetidos a esta dieta (Tabela 7).

Não houve efeito ($P>0,05$) das dietas experimentais sobre as concentrações de ácido acético e ácido propiônico na concentração molar entre as rações experimentais (Tabela 10). Houve efeito linear decrescente ($P<0,05$) para a concentração molar de ácido butírico (Tabela 10), onde os animais submetidos à ração G24 apresentaram menor valor, de forma semelhante ao citado anteriormente, o qual foi explicado pelo menor consumo de matéria seca dos animais submetidos a esta dieta. Também foi observado efeito linear decrescente ($P<0,05$) na relação acético/propiônico, onde os animais que receberam a dieta G24 apresentaram menores valores, no entanto, os demais tratamentos não apresentaram diferenças entre si.

Os resultados de fermentação ruminal encontrados na (Tabela 10) sugerem que a dieta G24 (que apresentava porcentagem de 7,4% de extrato etéreo, ou seja, alta quantidade de lipídeos insaturados) pode ter inibido bactérias ruminais gram-positivas e estimulado as produtoras de propionato, causando decréscimo na relação molar acetato:propionato e concomitante redução da porcentagem de butirato e aumento da de propionato. Neste estudo, a mesma dieta apresentou efeito depressor do consumo de matéria seca, que deve estar relacionado com a inibição do crescimento microbiano e, conseqüentemente, fermentação da fibra, reduzindo, assim, a taxa de passagem da digesta pelo trato gastrointestinal, ou ainda devido aos lipídeos, que não são fonte de energia para o crescimento microbiano. Assim alguns parâmetros ruminais foram influenciados, como a porcentagem de ácido propiônico e butírico, além da concentração molar de ácido butírico e a relação acético/propiônico. Esses resultados indicam que a inclusão de até 16% de grão de soja integral nas rações não influenciaram a fermentação ruminal das vacas utilizadas neste estudo.

Na literatura têm sido relatados potenciais efeitos inibidores sobre a fermentação ruminal relacionado à produção de amônia quando são utilizadas fontes de gordura em rações de ruminantes. A inibição no acúmulo de amônia pelas fontes de gordura, como citado anteriormente, pode estar relacionada ao efeito depressor dos lipídios insaturados sobre a população de bactérias gram-positivas fermentadoras obrigatórias de aminoácidos, para suprir suas necessidades energéticas e protéicas (CHEN; RUSSELL, 1989). Este efeito, especialmente sobre determinadas situações, é considerado benéfico.

No entanto, Vargas et al. (2002) avaliaram a adição de grão e óleo de soja nas rações de vacas no início de lactação e não verificaram diferenças na concentração de nitrogênio amoniacal para as fontes de gordura avaliadas. Entretanto, houve variação do pH nos animais que receberam grão de soja, que apresentaram maior valor.

Tabela 10 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) da fermentação ruminal em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais ¹				Média	EPM	P ²	
	C	G8	G16	G24			L	Q
pH ³	6,63	6,62	6,61	6,63	6,62	0,03	0,905	0,872
N-NH ₃ ⁴	22,64 ^a	15,30 ^b	12,70 ^b	15,88 ^b	16,99	0,9	0,006	0,006
<i>Ácidos graxos de cadeia curta (%)</i>								
Acético (C2)	68,35	68,46	68,50	68,18	68,37	0,26	0,783	0,562
Propiônico (C3)	19,73 ^b	20,27 ^b	20,38 ^b	22,03 ^a	20,74	0,29	<0,001	0,121
Butírico (C4)	11,91 ^a	11,27 ^a	11,11 ^a	9,77 ^b	12,60	0,19	<0,001	0,169
<i>Ácidos graxos de cadeia curta (mM)</i>								
Acético (C2)	64,92	62,16	63,87	60,18	62,78	1,35	0,212	0,833
Propiônico (C3)	18,83	18,37	18,98	19,65	18,96	0,50	0,458	0,537
Butírico (C4)	11,35 ^a	10,29 ^{ab}	10,37 ^{ab}	8,63 ^b	10,16	0,30	<0,001	0,460
C2/C3 ⁵	3,48 ^a	3,41 ^{ab}	3,38 ^{ab}	3,14 ^b	3,35	0,05	0,002	0,239
AGCC ⁶	95,10	90,82	93,22	88,50	92,11	2,00	0,267	0,950

¹ Controle (C); G8, G16 e G24 se referem a inclusão de, respectivamente, 8, 16 e 24% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca; ² Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed; ³pH: potencial hidrogeniônico; ⁴N-NH₃: nitrogênio amoniacal; ⁵Acetato/propionato; ⁶Ácidos graxos de cadeia curta.

Shauff et al., (1992), testando soja integral e/ou sebo bovino em dietas para vacas em lactação, observaram que a proporção molar de acetato e a relação acetato:propionato tenderam a decrescer nas dietas contendo lipídeo. Resultados similares foram encontrados por Stern, Santos e Satter (1985), quando soja integral foi fornecida para vacas em lactação, e por Storry, Hall e Johnson (1973) e Palmquist e Conrad (1978).

Dessa forma, analisando em conjunto os dados de digestibilidade aparente total dos nutrientes e fermentação ruminal obtidos neste estudo, verifica-se que sempre que for avaliado o efeito das fontes de gordura na alimentação de vacas leiteiras deve ser caracterizado adequadamente as condições de fornecimento, bem como a categoria animal e fase de lactação sob forma de interpretação equivocadas em determinadas situações. Assim, dependendo da fonte de gordura utilizada e das condições de fornecimento, os resultados

obtidos em avaliações de digestão e fermentação ruminal podem ser diferentes mesmo com a utilização das mesmas fontes de gordura.

6.4 SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA

Não houve diferença ($P>0,05$) nas excreções diárias em Mmol/L e Mmol/dia de alantoína na urina e no leite, e ácido úrico na urina e para a produção de urina em L/dia, para as rações experimentais (Tabela 11). De forma semelhante, não houve diferença nas concentrações ($P>0,05$) das purinas totais, derivados de purinas e purinas absorvíveis em Mmol/dia, e também não foi observada diferença ($P>0,05$) para a produção de nitrogênio microbiano e proteína bruta microbiana, em g/dia, entre as rações experimentais (Tabela 11). Da mesma maneira não foi observada diferença ($P>0,05$) na eficiência da síntese de proteína microbiana entre as rações experimentais.

Estes resultados indicam que a utilização de níveis crescentes de grão de soja integral nas dietas, até o nível de 24% na MS não influenciou a síntese de proteína microbiana, entretanto, podemos verificar que na dieta G24 houve redução numérica na síntese de proteína microbiana, que associada à outros dados, como os de consumo de matéria seca e coeficiente de digestibilidade da proteína bruta desta mesma dieta, podem explicar o menor desempenho produtivo dos animais submetidos a este nível de inclusão de grão de soja na dieta.

A suplementação de sementes de oleaginosas com elevado teor de extrato etéreo reduz a quantidade de carboidratos rapidamente fermentáveis, podendo diminuir a quantidade de substrato disponível para a síntese de proteína microbiana. Entretanto, alguns estudos encontrados na literatura não demonstram tais resultados. Freitas Júnior et al. (2010) avaliaram a excreção dos derivados de purina, nitrogênio microbiano total e proteína microbiana em dietas com a inclusão de 16% de grão de soja cru na matéria seca das rações e não encontraram diferença para as demais rações avaliadas, os valores observados pelos autores são semelhantes aos encontrados no presente estudo.

Vasconcelos et al. (2010), trabalhando com vacas leiteiras de alta produção alimentadas com grão de soja crua encontraram médias de purinas totais e absorvíveis de (462,13 e 393,37 Mmol/dia) e nitrogênio microbiano de 283,55 g/dia, resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo. Os autores não observaram diferenças entre o grão de

soja e seus subprodutos na síntese de proteína microbiana, o que fortalece o potencial de utilização de grão de soja cru na alimentação de vacas leiteiras.

Tabela 11 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) da síntese de proteína microbiana em função das rações experimentais

Parâmetros ³	Rações experimentais ¹				Média	EPM	P ²	
	C	G8	G16	G24			L	Q
Mmol/L								
Al-leite	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,01	0,501	0,999
Al-urina	11,33	9,94	14,17	10,90	11,59	0,67	0,640	0,508
Ác-úrico	6,12	6,35	6,32	6,51	6,33	0,28	0,556	0,970
Mmol/dia								
Al-leite	1,47	1,29	1,48	1,35	1,40	0,07	0,717	0,823
Al-urina	280,70	250,94	311,28	219,63	265,64	13,40	0,329	0,273
Ác-úrico	153,80	165,80	158,42	128,61	151,66	10,38	0,270	0,215
Pt	435,99	418,04	471,20	349,60	417,70	19,04	0,238	0,186
Dp	58,48	58,49	58,45	58,48	58,40	0,45	0,925	0,928
Pabs	449,40	428,03	491,36	346,57	428,84	22,62	0,238	0,186
g/dia								
N mic	282,84	269,40	309,26	218,12	269,90	14,22	0,238	0,186
Pb mic	1767,81	1683,74	1932,87	1363,29	1686,93	88,99	0,238	0,186
g Pbmic/Kg NDT								
Eficiência	145,20	156,39	159,19	129,69	147,61	7,37	0,507	0,174
L/dia								
Urina	25,93	26,15	24,23	20,42	24,18	1,10	0,070	0,364

¹Controle (C); G8, G16 e G24 se referem a inclusão de, respectivamente, 8, 16 e 24% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca, ²Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferenciam em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed, ³Alantoína no leite (Al-leite), alantoína na urina (Al-urina), ácido úrico (Ác-úrico), purinas totais (Pt), derivados de purinas (Dp), purinas absorvíveis (Pabs), nitrogênio microbiano (N mic), proteína microbiana (Pb mic)

A proteína microbiana é a melhor fonte de aminoácidos disponível para síntese e produção de leite, os resultados indicam que o grão de soja integral é uma excelente fonte de nitrogênio, pois demonstrou não alterar a produção microbiana, entretanto como já citado anteriormente a dieta G24 apresentou valores menores de produção de síntese que podem ser explicados pelo menor consumo de matéria seca demonstrados pelos animais submetidos e esta dieta e que tiveram menor desempenho produtivo.

6.5 PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE

Houve efeito linear decrescente ($P < 0,05$) sobre a produção de leite (Tabela 12), onde, os animais que receberam a ração G24 apresentaram menor produção de leite quando comparada as demais rações utilizadas, não sendo observadas diferenças na produção de leite nos animais submetidos às dietas controle, G8 e G16. Este resultado pode ser explicado pelo menor consumo de matéria seca, dos animais submetidos à dieta G24. Também houve efeito das dietas experimentais ($P < 0,05$) sobre a produção de proteína no leite, sendo que os animais submetidos às dietas G16 e G24 apresentaram valores inferiores aos animais submetidos às dietas controle e G8. Estes resultados podem ser explicados por alterações na fermentação ruminal, ou pelo menor substrato para os microorganismos ruminais provenientes das dietas com maiores teores de extrato etéreo, que podem levar a redução na síntese de proteína microbiana, como pode ser visto na tabela 11 e, conseqüentemente, na quantidade de proteína microbiana absorvida e que chegaria à glândula mamária, influenciando negativamente a produção de proteína no leite. Além disso, os animais submetidos à dieta G24 tiveram menor consumo de matéria seca e conseqüentemente menor produção de leite.

A ingestão de energia pode ser aumentada pela inclusão de gordura nas dietas, contrariamente ao aumento da energia disponível através do aumento na ingestão de matéria seca, da maior produção de concentrados ou carboidratos não estruturais, ou até mesmo da melhor utilização do amido disponível, a adição de gordura na dieta normalmente diminui a porcentagem de proteína no leite em 0,1 a 0,3 unidades percentuais, como pôde ser visto no experimento. A explicação para isto é que os microorganismos ruminais não são capazes de utilizar os lipídeos como fonte de energia para o seu crescimento.

Não houve efeito ($P > 0,05$) das rações experimentais sobre a produção de leite corrigido, teor e produção de gordura e lactose, teor de proteína, uréia e nitrogênio uréico no leite (Tabela 12). Esse resultado indica que possivelmente o aporte de nutrientes para o animal e especialmente para a glândula mamária não foi limitado pelos níveis de grão de soja nas rações experimentais, e que provavelmente a inclusão de grão de soja na matéria seca total de 8 a 16% não influenciou a digestibilidade da matéria seca. Entretanto, como os animais da dieta G24 tiveram menor consumo de matéria seca, este refletiu na menor produção de leite, vista no presente estudo. A concentração de nitrogênio no leite em forma de uréia esta positivamente correlacionada com a concentração de uréia sanguínea, ambas utilizadas como indicadores da correta utilização da proteína dietética.

Não houve efeito ($P>0,05$) das rações experimentais sobre a eficiência produtiva (Tabela 12), entretanto os animais submetidos à dieta G24 tiveram menor consumo de matéria seca e produção de leite que os animais submetidos às dietas controle, G8 e G16. Por este motivo não foi observada diferença na eficiência produtiva, mas os animais que receberam esta dieta tiveram desempenho produtivo inferior as demais.

Tabela 12 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) da produção e composição do leite em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais ¹				Média	EPM	P ²	
	C	G8	G16	G24			L	Q
	Kg/dia							
Produção de Leite	32,20 ^a	31,58 ^{ab}	31,05 ^{ab}	30,01 ^b	31,21	0,56	0,006	0,688
Produção Corrigida	29,46	29,09	30,33	28,14	29,26	0,78	0,472	0,282
Gordura	0,95	0,96	1,04	0,94	0,97	0,04	0,776	0,244
Proteína	0,96 ^a	0,92 ^{ab}	0,83 ^b	0,84 ^b	0,89	0,02	0,001	0,297
Lactose	1,25	1,23	1,20	1,18	1,22	0,03	0,281	0,920
	Porcentagem							
Gordura	2,96	3,00	3,30	3,06	3,08	0,10	0,318	0,279
Proteína	2,98	2,93	2,70	2,86	2,87	0,05	0,146	0,221
Lactose	4,23	4,28	4,00	4,25	4,19	0,05	0,685	0,352
	mg/dL							
Uréia no leite	35,71	32,91	30,02	30,17	32,58	0,40	0,227	0,106
NUL	16,69	14,76	13,46	13,53	14,61	0,19	0,227	0,106
Peso Corporal (Kg)	554,70	554,70	554,18	554,54	554,53	5,74	0,896	0,916
ECC ³	2,50	2,49	2,44	2,50	2,48	0,02	0,465	0,258
Eficiência ⁴	1,28	1,27	1,26	1,27	1,27	0,02	0,364	0,439

¹ Controle (C); G8, G16 e G24 se referem a inclusão de, respectivamente, 8, 16 e 24% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca; ² Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed; ³ECC: Escore de condição corporal; ⁴Kg de leite/Kg de matéria seca consumida

O peso corporal e o escore de condição corporal não foram influenciados ($P>0,05$) pelas rações experimentais (Tabela 12). Isso confirma que as rações atenderam as exigências nutricionais dos animais durante o período experimental, mesmo tendo ocorrido diferenças na produção de leite e consumo.

O efeito do aumento da produção de leite no teor de proteína em vacas em lactação suplementadas com gordura nas rações, segundo dados da literatura, se correlaciona à diluição dos sólidos totais, reduzindo a proteína do leite. Wu e Hurber (1993) revisaram dados de 49 experimentos envolvendo 83 comparações entre rações com e sem adição de gordura em vacas leiteiras, e observaram que na maioria dos casos o teor de proteína foi reduzido pela

adição de fontes de gordura nas rações, sendo o grau de depressão dependente da fonte de gordura.

Smith, Dunkley e Franke (1978) enfatiza que a depressão do teor de proteína do leite observada em alguns estudos com o uso de gordura possivelmente pode ser explicada pela redução do aproveitamento de glicose, consequência da redução da concentração de propionato ruminal, causando baixa concentração de insulina no plasma e menor disponibilidade de glicose.

Como no presente estudo foram observadas alterações na fermentação ruminal (Tabela 12) em função dos níveis de inclusão de grão de soja nas dietas, as produções de ácidos graxos de cadeia curta foram alteradas entre as rações experimentais, inclusive a relação acetato:propionato. Desta forma, houve alteração no fornecimento de glicose para síntese de leite, e houve alteração da produção de proteína no leite quando as vacas foram alimentadas com as rações contendo 24% de inclusão de grão de soja na matéria seca.

6.6 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NO LEITE

Em relações as concentrações dos isômeros C18:1 *trans*-11 (ácido vacênico), CLA *cis*-9, *trans*-11 e CLA *trans*-10, *cis*-12 não foi observado efeito ($P>0,05$) para as rações experimentais (Tabela 13). Estes resultados possivelmente podem ser justificados pela redução da biohidrogenação ruminal da gordura presente no grão de soja integral. Considerando a inclusão em níveis crescentes nas dietas utilizadas é preciso enfatizar que também houve aumento dos níveis de extrato etéreo nas mesmas (Tabela 5). Assim os resultados esperados seriam maiores concentrações dos intermediários do processo de biohidrogenação devido a grande quantidade de gordura disponível no rúmen, ainda que com algum tipo de proteção. No entanto, as concentrações principalmente de ácido vacênico não foi alterada. Podemos concluir e enfatizar o possível poder de proteção contra a biohidrogenação ruminal do grão de soja integral, não superando assim a capacidade de hidrogenação dos microorganismos ruminais, impedindo assim a biohidrogenação parcial e formação de isômeros que possam ter efeito negativo na porcentagem de gordura no leite, como o CLA *trans*-10, *cis*-12.

Segundo Jenkins (1993) um dos motivos para que ocorra a redução da biohidrogenação ruminal consiste na superação da capacidade de hidrogenação dos

microorganismos ruminais, impedindo assim a biohidrogenação parcial e formação de alguns isômeros. Portanto, estes resultados sugerem que houve proteção da gordura presente no grão, quando maiores níveis de inclusão foram incluídos nas dietas.

De forma geral, foi observado efeito linear decrescente ($P < 0,05$) para as concentrações totais de ácidos graxos $<C16$ como os ácidos capríco (C 6:0), caprílico (C 8:0), cáprico (C 10:0), láurico (C 12:0), mirístico (C 14:0), com o aumento da inclusão de grão de soja nas rações. Os ácidos graxos de cadeia curta são sintetizados principalmente nas células epiteliais da glândula mamária, a partir do acetato e do β -hidroxibutirato, que são originados no rúmen, os valores encontrados no presente estudo sugerem que a inibição da síntese de ácidos graxos de cadeia curta na gordura do leite $<C16$ pelos aumentos dos níveis de inclusão de grão de soja e conseqüente de extrato etéreo das dietas pode ser explicada pela diminuição da relação acetato/propionato no rúmen (Tabela 10), e pelo fornecimento de ácidos graxos pré-formados para a glândula mamária.

Como pode ser observado, houve maior concentração de AG (C 18:0) ($P < 0,05$) para a ração contendo grão de soja, confirmando maior participação de AGs pré-formados de origem dietética para a composição de gordura do leite. Os lipídeos adicionados à ração tendem a aumentar o teor de ácido esteárico, resultados semelhantes foram encontrados por Schauff et al. (1992) e Pinto (1997).

No entanto não foi observada diferença ($P > 0,05$) entre as rações experimentais para os ácidos graxos $C16$ e $>C16$. Também não foi observado efeito ($P > 0,05$) para as concentrações de C18:0 insaturado para as rações experimentais (Tabela 13).

Quando se avalia o processo de inclusão e digestão de gordura em ruminantes, a maioria dos ácidos graxos é modificada através do metabolismo ruminal, dessa forma a biohidrogenação normalmente não é completa, resultando em ampla variedade de ácidos graxos (BYERS; SCHEHING, 1993). Assim, quando ocorre biohidrogenação incompleta de ácidos graxos poliinsaturados, aumenta o fluxo duodenal de ácidos graxos C18:1 *trans* e ácido linoléico conjugado CLA *cis*-9, *trans*-11 e CLA *trans*-10, *cis*-12, apresentando o último comprovado efeito inibidor sobre a síntese de gordura do leite (BAUMAN; GRIINARI, 2003; PETERSON et al., 2003).

Tabela 13 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) para o perfil de ácidos graxos (g/100g de AG) da gordura do leite de acordo com as rações experimentais

Ácido graxo	Tamanho da cadeia	Rações experimentais ¹				Média	EPM	<i>P</i> ²	
		C	G8	G16	G24			L	Q
<i>AG g/100g do total AG</i>									
Butírico	C 4:0	1,06	1,12	1,03	1,01	1,06	0,03	0,387	0,423
Capróico	C 6:0	1,21 ^{ab}	1,27 ^a	1,13 ^{ab}	1,08 ^b	1,17	0,03	0,054	0,334
Caprílico	C 8:0	0,89 ^{ab}	0,92 ^a	0,79 ^b	0,74 ^b	0,84	0,02	0,028	0,272
Cáprico	C 10:0	2,23 ^a	2,29 ^a	1,91 ^b	1,74 ^b	2,04	0,06	<0,001	0,275
Laúrico	C 12:0	2,60 ^a	2,60 ^a	2,14 ^b	1,93 ^b	2,32	0,08	<0,001	0,397
Mirístico	C 14:0	8,03 ^{ab}	8,15 ^a	7,10 ^b	6,71 ^b	7,50	0,20	0,002	0,440
Pentadecílico	C 15:0	0,80 ^a	0,76 ^a	0,65 ^b	0,60 ^b	0,70	0,02	<0,001	0,842
Palmitico	C 16:0	23,53	24,07	20,70	20,69	22,25	0,72	0,044	0,830
Palmitoléico	C16:1	1,53 ^a	1,46 ^a	1,25 ^b	1,18 ^b	1,35	0,05	<0,001	0,998
Heptadecanóico	C17:0	0,38 ^a	0,38 ^a	0,32 ^b	0,30 ^b	0,34	0,01	<0,001	0,596
Estearico	C18:0	6,95 ^b	8,03 ^a	8,28 ^a	9,01 ^a	8,07	0,27	0,002	0,687
Linoléico <i>trans</i>	C18:2	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,02	0,414	0,090
Linoléico <i>cis</i>	C18:2	1,94 ^b	2,37 ^b	2,44 ^{ab}	2,88 ^a	2,41	0,11	<0,001	0,955
Vacênico <i>trans</i> -11	C18:1	0,49	0,67	0,44	0,45	0,51	0,03	0,198	0,171
Oléico <i>cis</i> -9	C18:1	16,28	17,52	17,07	17,81	17,17	0,59	0,306	0,782
Linolênico	C18:3	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,360	0,684
Araquídico	C20:0	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,01	0,871	0,321
CLA ³ <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11		0,25	0,26	0,24	0,22	0,24	0,01	0,262	0,638
CLA <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,01	0,192	0,327
C16		23,53	24,06	20,69	20,68	22,24	0,72	0,044	0,830
>C16		27,06	30,09	29,56	31,47	29,55	0,96	0,068	0,710
<C16		18,64 ^{ab}	19,68 ^a	16,28 ^b	15,20 ^b	17,45	0,57	0,004	0,293
Total C18									
Sat ⁴ C18:0		6,96 ^b	7,93 ^{ab}	8,28 ^a	9,01 ^a	8,04	0,27	0,001	0,768
Ins ⁵ C18:0		18,90	20,86	20,10	21,29	20,29	0,70	0,186	0,717
Ins/sat C18:0		2,77 ^a	2,64 ^{ab}	2,45 ^b	2,35 ^b	2,55	0,05	0,001	0,870
Total									
Sat		46,79	49,40	43,32	43,10	45,65	1,21	0,106	0,541
Ins		22,43	24,40	23,19	24,23	23,56	0,77	0,432	0,695
Relação Ins/Sat		2,18 ^a	2,05 ^{ab}	1,94 ^b	1,83 ^b	2,00	0,05	0,003	0,872

¹Controle (C); G8, G16 e G24 se referem a inclusão de, respectivamente, 8, 16 e 24% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca; ² Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed; ³CLA: Ácido linoléico conjugado; ⁴Sat: Saturado; ⁵Ins: Insaturado

Quando se avaliou a concentração dos isômeros C 18:1 *trans*-11, C 18:2 *cis*-9, *trans*-11 e C 18:2 *trans*-10, *cis*-12 verifica-se concentrações semelhantes entre as dietas experimentais. Estes resultados demonstram que não houve aumento da extensão de biohidrogenação de ácidos graxos com a inclusão de grão de soja cru e integral nas dietas,

nem mesmo quando o teor de extrato etéreo das rações foi aumentado, demonstrando assim o poder de proteção do grão de soja integral sobre os lipídeos que estão “presos” na matriz protéica do grão, diminuindo seu contato com os microorganismos ruminais e fazendo com que sua liberação seja de forma lenta.

De forma semelhante, esses resultados também foram relatados por Jenkins e Bridges (2007) em um estudo analisando 25 referências com diferentes fontes de gordura.

Com pode ser observado no experimento a adição de grão de soja cru e integral nas dietas alterou o perfil de ácidos graxos da gordura do leite, aumentando os teores de C 18:0 que o produto final da biohidrogenação, também foi verificado aumento nas concentrações de C18:2 *cis*. Estes resultados podem ser atribuídos a maior proteção de ácidos graxos insaturados na forma de grão integral favorecendo a maior passagem de C 18:2 *cis* para a absorção no abomaso e a não formação dos CLAs *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12, o que demonstra a proteção e lenta liberação de lipídeos, contidas no grão de soja, não superando assim a capacidade de biohidrogenação ruminal.

6.7 BALANÇO DE ENERGIA

Em relação ao consumo de energia não foi observada diferença ($P>0,05$) entre as dietas experimentais (Tabela 14) para energia bruta, digestível, metabolizável e líquida de lactação. Estes resultados estão de acordo com o consumo de matéria seca e o consumo de extrato etéreo, onde o menor consumo de matéria seca apresentado pelos animais submetidos à dieta G24 foi compensado pelo maior consumo de extrato etéreo, sendo que a medida que os níveis de inclusão de grão de soja nas dietas foram aumentados, aumentavam-se consequentemente os teores de extrato etéreo das mesmas, o que explica esta igualdade no consumo de energia.

Ao se avaliar a produção de energia foi observado efeito linear ($P<0,05$) decrescente para energia líquida de lactação, porém não apresentando diferença entre as rações experimentais (Tabela 14), que pode ser justificado pela produção de leite corrigida dos animais (Tabela 12), que apresentou o mesmo comportamento.

Em relação à energia líquida de ganho foi observado efeito linear crescente ($P<0,05$), onde as rações G24 e G16 apresentaram maior ganho em relação a ração controle, porém não

diferindo da G8 (Tabela 14). Estes resultados podem ser explicados pelos teores e consumo de extrato etéreo apresentado nas dietas experimentais (Tabela 7).

Em relação ao balanço de energia não foi observado efeito ($P>0,05$) entre as dietas experimentais (Tabela 14), estes dados são explicados pela fase de lactação em que os animais se encontram e pelo consumo de matéria seca e energia, apresentados para as dietas experimentais (Tabela 7).

Na eficiência energética foi observado efeito linear crescente ($P<0,05$) para energia líquida de produção e decrescente ($P<0,05$) para energia líquida de lactação, porém não foi observada diferença entre as rações experimentais em ambas as variáveis (Tabela 14). Estes resultados são justificados pelo consumo de energia digestível apresentado e também pelo comportamento da produção de energia líquida de lactação e de ganho quando avaliadas as rações experimentais.

Tabela 14 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) para o balanço de energia em função das rações experimentais

Variáveis	Rações experimentais ¹				Médias	EPM	<i>P</i> ²	
	C	G8	G16	G24			L	Q
<i>Consumo</i>								
EB ³ (Mcal/dia)	95,42	96,95	98,62	96,23	96,81	2,22	0,530	0,187
ED ⁴ (Mcal/dia)	65,77	66,36	69,49	66,02	66,91	1,48	0,514	0,135
EM ⁵ (Mcal/dia)	54,59	55,08	57,68	54,79	55,53	1,23	0,514	0,135
EL _L ⁶ (Mcal/dia)	42,38	43,32	44,03	43,74	43,37	1,06	0,141	0,396
<i>Produção</i>								
EL _L ⁷ (Mcal/dia)	19,35	19,04	18,89	18,18	18,86	0,49	0,038	0,602
EL _g ⁸ (Mcal/dia)	15,46 ^b	16,84 ^{ab}	17,80 ^a	18,04 ^a	17,03	0,76	0,001	0,285
<i>Balanço de energia</i>								
EL ⁹ (Mcal/dia)	9,14	9,13	9,13	9,13	9,13	0,07	0,667	0,809
<i>Eficiência energética</i>								
EL _P ⁷ /CED	0,52	0,53	0,52	0,54	0,53	0,006	0,154	0,530
EL _L ¹⁰ /CED	0,29	0,28	0,27	0,27	0,28	0,004	0,001	0,450

¹ Controle (C); G8, G16 e G24 se referem a inclusão de, respectivamente, 8, 16 e 24% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca; ² Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed;

³ Consumo de Energia Bruta (CEB);

⁴ Consumo de Energia Digestível (CED);

⁵ Consumo de Energia Metabolizada (CEM);

⁶ EL_L (consumo) = $0.703 \times EM$ (Consumo) - 0.19 + $\{[(0.097 \times EM$ (Consumo) + 0.19)/97] $\times [EE - 3]\}$; EM (Consumo) = $1.01 \times (ED$ (consumo)) - 0.45] + $0.0046 \times (EE - 3)$ (NRC, 2001);

⁷ EL_L para produção de leite (Mcal/dia) = Produção de leite (Kg) $\times (0.0929 \times G\% + 0.0563 \times \text{proteína verdadeira } \% + 0.0395 \times \text{lactose}\%)$ (NRC, 2001).

⁸ EL_g (Variação de peso corporal) calculado pelas fórmulas do NRC (2001).

⁹ EL_P = EL (consumo) - EL (ganho PV) - EL (leite).

¹⁰ EL_L para desempenho de lactação = (EL produção de leite + EL ganho de PV).

Esse modelo de cálculo foi escolhido por ser o mais utilizado cálculo de balanço de energia e por eliminar os erros de aumento de ganho de peso vivo que podem superestimar o aumento nas exigências de manutenção (HARVATINE; ALLEN, 2006). O peso metabólico pode ser usado para prever as exigências de energia de manutenção entre animais diferindo no peso vivo, mas não estimar as mudanças nas exigências de energia líquida de manutenção com ganho de peso, pois há variações na composição corporal dos animais estudados (NRC, 2001).

Assim, apesar da ração G24 ter apresentado menor consumo de matéria seca não foi observado diferenças no aproveitamento de energia, mas como citado anteriormente, a fase de lactação onde se encontram os animais deve ser levada em consideração, bem como os demais dados, como os de digestibilidade da proteína bruta, consumo de matéria seca e desempenho produtivo dos animais, pra se avaliar a inclusão de grão de soja nas dietas.

6.8 BALANÇO DE NITROGÊNIO

Os valores médios e os coeficientes de variação para os consumos de compostos nitrogenados totais (NT), a excreção de compostos nitrogenados totais nas fezes (N-fecal), na urina (N-urina) e no leite (N-leite), o balanço de nitrogênio (BN) e a eficiência de utilização de nitrogênio obtidas para as rações experimentais são apresentados na (Tabela 15).

Foi observado efeito linear decrescente ($P > 0,05$) para consumo de nitrogênio total, porém não foram observadas diferenças entre as dietas experimentais. Não houve efeito para excreção de nitrogênio na urina (g/dia e % do NT) e no leite (g/dia e % do NT), estes dados estão de acordo com o consumo de proteína bruta observado nas dietas experimentais no que diz respeito ao consumo de nitrogênio total. As concentrações de nitrogênio uréico no soro e uréia (Tabela 16) podem justificar a excreção de nitrogênio na urina (Tabela 15), e a excreção de nitrogênio no leite está diretamente relacionada com a produção de proteína no leite (Tabela 12).

Em relação a excreção de nitrogênio nas fezes (g/dia e % NT) foi observado efeito linear crescente ($P < 0,05$) onde se obteve maior excreção para a dieta G24 (Tabela 15). Estes dados são justificados pela maior excreção de grão de soja nas fezes apresentada pelos animais submetidos a esta mesma dieta.

Com relação ao balanço de nitrogênio em gramas dia foi observado efeito quadrático ($P < 0,05$) com ponto de máxima para a ração G16, sendo observado melhor balanço de nitrogênio em g/dia para a ração G16, no entanto não foi observada nenhuma diferença ($P > 0,05$) quando se avaliou a balanço de nitrogênio em porcentagem do nitrogênio total (Tabela 15).

Spanghero e Kowalski (1997) realizaram compilação de dados utilizando o modelo de meta-análise, e avaliaram 35 experimentos e 135 rações diferentes, com média de consumo de matéria seca de 17,6 Kg/dia, e produção média de leite de 26,1 Kg/dia. Estes autores avaliaram o balanço de nitrogênio em vacas leiteiras e verificaram valores médios de balanço de nitrogênio de 39 g/dia. No presente estudo, a média de balanço de nitrogênio foi de 129,64 g/dia, que apresenta valores superiores devido à fase de lactação e desempenho produtivo dos animais.

Tabela 15 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) para balanço de nitrogênio em função das rações experimentais

Variável	Rações experimentais ¹				Médias	EPM	<i>P</i> ²	
	C	G8	G16	G24			L	Q
<i>Consumo (g/dia)</i>								
Nitrogênio Total	678,64	674,88	661,00	632,61	661,78	14,42	0,012	0,332
<i>Excreção (g/dia)</i>								
Fecal	163,75 ^a	185,39 ^{ab}	182,80 ^{ab}	201,59 ^b	183,38	6,32	0,007	0,868
Urinário	163,59	165,18	159,70	163,06	162,88	6,68	0,900	0,944
Leite	149,74	139,47	133,46	136,98	139,91	4,04	0,061	0,187
<i>Balanço (g/dia)</i>								
Nitrogênio	181,96 ^{ab}	146,48 ^{ab}	191,93 ^a	132,16 ^b	163,31	8,18	0,470	0,036
<i>Excreção (% Nitrogênio Total)</i>								
Fecal	23,94 ^a	27,69 ^{ab}	27,60 ^{ab}	32,01 ^b	27,81	0,80	0,002	0,466
Urinário	26,96	30,67	23,39	25,41	26,61	0,96	0,097	0,593
Leite	21,98	20,81	20,09	21,57	21,11	0,41	0,514	0,059
<i>Balanço (% Nitrogênio Total)</i>								
Nitrogênio	27,09	20,82	28,90	20,99	24,45	1,16	0,534	0,058
<i>g Nitrogênio no Leite/g Nitrogênio Consumido</i>								
Eficiência	0,22	0,22	0,22	0,23	0,22	0,003	0,675	0,786

¹Controle (C); G8, G16 e G24 se referem a inclusão de, respectivamente, 8, 16 e 24% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca, ² Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed

Gozho e Mutsvangwa (2008) avaliaram a suplementação de 8,3% de óleo de canola na matéria seca total nas rações de vacas Holandesas no início de lactação, utilizando rações com 5,2% de extrato etéreo na matéria seca. Estes autores não verificaram efeito do óleo sobre o balanço de nitrogênio dos animais suplementados. Elliott et al. (1993) avaliaram a suplementação de sebo e óleo de milho em 2,5 e 5,0 % na matéria seca total vacas leiteiras canuladas no rúmen, e não verificaram alterações na utilização de nitrogênio.

Petit et al. (2002) avaliaram a suplementação de sais de cálcio de ácidos graxos, sementes de linhaça e soja micronizada como fonte de gordura nas rações de vacas no início de lactação em rações contendo cerca de 8,0% de extrato etéreo. Estes autores não observaram diferenças no balanço de nitrogênio entre as fontes de gordura utilizadas, sendo os valores verificados por estes autores semelhantes aos observados neste estudo.

O consumo de nitrogênio (g/dia) entre as rações experimentais acompanharam de forma coerente os resultados de consumo de matéria seca (Tabela 7), as concentrações de nitrogênio uréico no leite e no soro (Tabela 14). Isso justifica a variação no consumo e excreção fecal de nitrogênio (g/dia), já que as rações utilizadas neste estudo foram isoprotéicas.

Assim, pode-se afirmar que o metabolismo protéico dos animais não foi alterado com as fontes de gordura, e que os animais que consumiram a ração G16 apresentaram os melhores resultados de balanço de nitrogênio.

6.9 PARÂMETROS SANGUÍNEOS

Não houve diferença ($P>0,05$) entre as rações experimentais para as concentrações no soro de glicose, uréia, nitrogênio uréico, proteínas totais, albumina, gama glutamil transferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA) (Tabela 16).

Foi observado efeito linear crescente ($P<0,05$) para as concentrações de colesterol total e colesterol HDL (Tabela 16). Quando foram comparadas as médias, para concentração de colesterol total, foi observado maior valor para a ração G24 em relação as demais, entretanto não houve diferença entre as rações G8 e G16 (Tabela 16). Foi observado aumento de 1,32 vezes quando comparou a dieta G24 com o controle, para as concentrações de colesterol total. Este aumento da concentração do colesterol HDL no lipidograma do soro pode ser justificado

devido ao maior consumo de ácidos graxos nas rações, que proporcionou aumento das respectivas frações relativas ao metabolismo de lipídios transportadas no sangue.

Nas concentrações de aspartato amino transferase (AST) foi observado efeito linear crescente ($P < 0,05$), porém não foi observado diferença entre as dietas experimentais (Tabela 16). Além disso, os valores obtidos estão dentro da variação normal encontrada para vacas em lactação (KANEKO; HARVERY; BRUSS, 1997).

Elliott et al. (1993), de forma semelhante, observaram aumento da concentração de colesterol total no sangue de vacas com cerca de 64 dias em lactação e suplementadas com diferentes fontes de gordura, com médias de 247 mg/dL e 246 mg/dL, respectivamente, para os níveis de 2,5 e 5,0 % de EE na dieta. De acordo com Schauuff et al. (1992) e Elliott et al. (1993), este aumento da concentração de colesterol total no sangue ocorre devido à elevação da demanda necessária para digestão, absorção e transporte de ácidos graxos de cadeia longa ingerida advinda das fontes de gordura.

Bremmer, Ruppert e Clark (1998) também observaram aumento da concentração de colesterol total em vacas que receberam infusão de misturas de ácidos graxos de cadeia longa no abomaso, de forma semelhante a Christensen et al. (1994), que verificaram tendência de aumento da concentração de triglicerídeos em vacas que receberam misturas de ácidos graxos de cadeia longa no abomaso.

A concentração de glicose plasmática não foi influenciada pelas rações experimentais, sendo este resultado semelhante aos estudos de e Drackley et al. (1992); Elliott et al. (1993) e Bremmer, Ruppert e Clark (1998), que verificaram concentração semelhante de glicose plasmática em vacas suplementadas com diferentes fontes de gordura. A manutenção da concentração de glicose plasmática se relaciona à relativa estabilidade nas concentrações de glicose em ruminantes.

Oliveira et al. (2005) avaliaram a bioquímica sérica de vacas Holandesas no pré e pós-parto e observaram valores para as concentrações da enzima gamaglutamiltransferase, de 13,54 mg/dL ($\pm 4,26$) aos 180 dias de lactação. Hoedemaker et al. (2004) avaliaram os parâmetros sanguíneos de 238 vacas e observaram valores da enzima aspartatoaminotransferase de 40,0 U/L aos 77 dias pós-parto, valor este semelhante ao encontrado neste estudo. De acordo com Kaneko, Harvery e Bruss (1997), os valores de fosfatase alcalina (FA) também estão dentro dos valores encontrados para bovinos, sendo de 0 a 488 U/L.

Tabela 16 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) dos metabólitos plasmáticos em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais ¹				Médias	EPM	P ²	
	C	G8	G16	G24			L	Q
	<i>mg/dL</i>							
Glicose	63,53	66,53	62,53	65,69	64,57	2,00	0,796	0,562
Colesterol	190,61 ^b	212,84 ^{ab}	241,76 ^a	251,84 ^a	224,26	6,15	0,014	0,363
C-HDL ³	117,30 ^b	128,30 ^{ab}	144,15 ^a	143,15 ^a	133,23	3,82	0,007	0,050
Uréia	38,61	39,92	41,00	38,92	39,61	1,53	0,481	0,778
NUS ⁴	18,04	18,65	19,16	18,18	18,51	0,71	0,481	0,778
	<i>g/L</i>							
Proteínas Totais	4,93	5,29	5,14	5,22	5,14	0,12	0,125	0,366
Albumina	2,41	2,38	2,36	2,44	2,40	0,03	0,931	0,878
	<i>U/L</i>							
AST ⁵	60,92	62,38	64,07	67,00	63,59	1,58	0,028	0,189
GGT ⁶	4,30	4,64	4,23	4,64	4,45	0,14	0,239	0,340
FA ⁷	35,30	35,76	36,53	38,15	36,44	1,29	0,171	0,166

¹Controle (C); G8, G16 e G24 se referem a inclusão de, respectivamente, 8, 16 e 24% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca; ²Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed; ³C-HDL: Colesterol – lipoproteína de alta densidade; ⁴NUS: Nitrogênio uréico no soro; ⁵AST: aspartato aminotransferase; ⁶GGT: gama glutamil transferase; ⁷FA: fosfatase alcalina

Freitas Júnior et al., (2010) avaliaram as concentrações de colesterol total e HDL, glicose, uréia e nitrogênio uréico no soro a as enzimas hepáticas (AST, GGT e FA), de vacas leiteiras alimentadas com 16% de grão de soja integral na matéria seca das dietas e encontraram valores semelhantes aos encontrados no presente estudo.

As concentrações dos parâmetros sanguíneos foram alterados pelas dietas com inclusão de grão de soja, especialmente o colesterol total e HDL. Entretanto a inexistência de variações das enzimas hepáticas AST, GGT e FA, indica que neste estudo os animais em lactação suplementados com grão de soja cru e integral no nível de até 24% de inclusão na MS da dieta, não sofreram alterações consideráveis no tecido hepático durante o metabolismo de gordura, demonstrando o potencial.

7 CONCLUSÕES

A utilização de grão de soja integral nas rações de vacas em lactação apresentou resultados favoráveis, sendo a resposta dependente do nível utilizado.

A utilização de grão de soja no nível de 24% de inclusão na matéria seca da dieta alterou a fermentação ruminal, reduziu o consumo de matéria seca, digestibilidade da proteína bruta e conseqüentemente o desempenho produtivo dos animais submetidos a esta dieta. No entanto, este resultado é válido para a fase de lactação e desempenho dos animais utilizados no estudo, pois a taxa de passagem pode estar diretamente relacionada com o aproveitamento do grão.

O nível de inclusão de até 16% de grão de soja integral na MS das dietas de vacas em início de lactação e com produção média de leite de 31,21 Kg/dia se mostrou o mais adequado, pois não alterou o consumo de alimentos, nem a produção de leite, e resultou em algumas alterações positivas na composição do leite, como no aumento numérico da porcentagem de gordura e no perfil de ácidos graxos da gordura do leite.

REFERÊNCIAS

AGRIANUAL, 2009. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2009. p. 462-485.

ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1598-1630, 2000.

ÁVILA, C. D.; DePETERS, E. J.; PEREZ-MONTI, H.; TAYLOR, S. J.; ZINN, R. A. Influences of saturation ratio of supplemental dietary fat on digestion and milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1505-1519, 2000.

BATEMAN, H. G.; JENKINS, C. Influence of soybean oil in high fiber diets fed to non lactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 81 n. 9, p. 2451-2458, 1998.

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

BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v. 23, p. 203-227, 2003.

BAUMAN, D. E.; LOCK, A. L. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows. In: Tri-State Dairy Nutrition Conference 15. 2006, West Lafayette. **Proceedings...** West Lafayette: Cornell University, 2006.14 p.

BEN SALEM, H.; KRZEMINSKI, R.; FERLAY, A.; DOREAU, M. Effect of lipid supply on in vivo digestion in cows: comparison of hayand corn-silage diets. **Canada Journal Animal Science**, v. 73, p. 547-557, 1993.

BERNARD, J. K. Effect of raw or roasted whole soybeans on digestibility of dietary nutrients and milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 11, p. 3231-3236, 1990.

BIGGS, H. G.; COOPER, J. M. An evaluation of four methods of measuring urinary creatinine. **Clinical Chemistry**, v. 7, p. 665-673, 1961.

BREMMER, D. R.; RUPPERT, L. D.; CLARK, J. H. Effects of chain length and instauration of fatty acid mixtures infused into the abomasum of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p. 176-188, 1998.

BRODERICK, G. A. Alfalfa silage or hay versus corn silage as the sole forage for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p. 3262-3271, 1985.

BYERS, F. M.; SCHELLING, G. T. Lipids in ruminant nutrition. In: CHURCH, D. C. (Ed.) **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. New Jersey: a Reston Book. 1989. p. 298-312.

BYERS, F. M.; SCHELLING, G. T. Los lípidos en la nutrición de los rumiantes. In: CHURCH, D.C. **El ruminante: Fisiología digestiva y nutrición**. Zaragoza: Acribia, 1993. cap 15.

CANALE, C. J.; BURGESS, P. L.; MULLER, L. D.; VARGA, G. A. Calcium salts of fatty acids in diets that differ in neutral detergent fiber: effect on lactation performance and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 1031-1038, 1990.

CANT, J. P.; DEPETERS, E. J.; BALDWIN, R. L. Mammary amino acid utilization in dairy cows fed fat and its relationship to milk protein depression. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 762-774, 1993.

CASALI, A. O. **Procedimentos metodológicos in situ na avaliação do teor de compostos indigestíveis em alimentos e fezes de bovinos**. 2006, 47 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

CASPER, D. P.; SCHINGOETHE, D. J. Model to describe and alleviate milk protein depression in early lactation dairy cows fed a high fat diet. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 3327-3335, 1989.

CHALUPA, W.; RICKABAUGH, B.; KRONFELD, D. S.; DAVID, S. Rumen fermentation *in vitro* as influenced by long chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 1439-1444, 1984.

CHALUPA, W.; VECCHIARELLI, B.; ESLER, A. E. et al. Ruminant fermentation *in vitro* as influenced by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 5, p. 1293-1301, 1986.

CHEN, G.; RUSSELL, J. B. More monensin-sensitive, ammonia producing bacteria from the rumen. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 55, p. 1052-1057, 1989.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details**. Aberdeen: International Feed Research Unit. Bucksburn; Rowett Research Institute, 1992. 21 p.

CHILLIARD, Y. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, and rodents: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3897-3931, 1993.

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

CHIZZOTTI, M. L. **Avaliação da casca de algodão para novilhos de origem leiteira e determinação da excreção de creatinina e produção de proteína microbiana em novilhas e vacas leiteiras**. 2004. 132p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

CHOUINARD, P. Y.; GIRARD, V.; BRISSON, G. H. Fatty acid profile and physical properties of milk fat from cows fed calcium salts of fatty acids with varying unsaturation. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 2, p. 471-481, 1998.

CHOUINARD, P. Y.; CORNEAU, L.; SAEBO, A.; BUMAN, D. E. Milk yield and composition during abomasal infusion of conjugated linoleic acids in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2737-2745, 1999.

CHOW, J. M.; DePETERS, E. J.; BALDWIN, R. L. Effect of rumen- protected methionine and lysine on casein in milk when diets high in fat or concentrate are fed. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 1051-1061, 1990.

CHRISTENSEN, R. A.; CAMERON, M. R.; CLARK, J. H.; DRACKLEY, J. K.; LYNCH, J. M.; BARBANO, D. M. Effects of amount of protein and ruminally protected amino acids in the diet of dairy cows fed supplemental fat. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 1618-1629, 1994.

COELHO, D. T.; ROCHA, J. A. A. **Práticas de processamento de produtos animais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1977. 79p.

COPPOCK, C. E.; WILKS, D. L. Milk yield, and composition supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: effects on intake, digestion. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 3826-3837, 1991.

COPPOCK, C. E.; WILKS, D. L. Milk yield, and composition supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: effects on intake, digestion. **Journal Animal Science**, v. 69, p. 3826-3837, 1991.

CORRÊA, A. M. V. **Utilização da soja em diferentes formas na alimentação de vacas leiteiras**. 2007, 128 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for latering ruminant meat and milk lipid. **Processings of the Nutrition Society**, v. 58, p. 593-607, 1999.

DePETERS, E. J.; TAYLOR, S. J.; FINLEY, C. M.; FRANKE, A. A.; AGUIRRE, A. Dietary fat and nitrogen composition of milk from lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 70, p. 1192-1201, 1987.

DERESZ, F.; FERNANDES, A. M.; MATOS, L. L. Utilização da soja-grão crua na alimentação de vacas leiteiras de alta produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 25, n. 1, p. 113-124, 1996.

DHIMAN, R.; SATTER, L. D.; PARIZA, M. W.; GALLI, M. P.; ALBRIGHT, K.; TOLOSA, M. X. Conjugated linoleic acid (cla) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1016–1027, 2000.

DHIMAN, T. R.; SATTER, L. D. yield response of dairy cows fed different proportions of alfalfa silage and corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 2069-2087, 1997.

DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal of Nutrition**, v. 78, p. 15-35, 1997.

DRACKLEY, J. K.; KLUSMEYER, T. H.; TRUSK, A. M.; CLARK, J. H. Infusion of long-chain fatty acids varying in saturation and chain length into the abomasum of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 1517-1526, 1992.

DUARTE, L. M. A.; STUMPF JÚNIOR, W.; FISCHER, V.; SALLA, L. E. Efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas jersey sobre o consumo, a produção e a composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2020-2028, 2005.

EDMONSON, A. J.; LEAN, I. J.; WEAVER, L. D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 68-78, 1989.

ELLIOTT, J. P.; DRACKLEY, J. K.; SCHAUFF, D. J.; JASTER, E. H. Diets containing high oil corn and tallow for dairy cows during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 775-789, 1993.

ERWIN, E. S.; MARCO, G. J.; EMERY, E. M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v. 44, n. 9, p. 1768-1777, 1961.

FALDET, M. A.; SATTER, L. D. feeding heat-treated full fat soybeans to cows to early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3047-3054, 1991.

FENG, S.; LOCK, A. L.; GARNSWORTHY, P. C. A rapid method for determining fatty acid composition of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 3785–3788, 2004.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **Journal Biology Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, 1957.

FREITAS JÚNIOR, J. E. **Utilização de fontes de gordura em rações de vacas leiteiras**. 2008. 93 p. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

FREITAS JÚNIOR, J. E.; RENNO, F. P.; SILVA, L. F. P.; GANDRA, J. R.; MATURANA FILHO, M.; FODITSCH, C.; VENTURILLI, B. C. Parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Ciência Rural**, v. 40, n. 4, p. 950-956, 2010.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D. E. Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal. In: Berchielli, t.t. (ed.) **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p. 583.

GARNSWORTHY, P. C. Fat in dairy cow diets. In: WISEMAN, J.; GARNSWORTHY, P. C. **Recent Developments in Ruminant Nutrition 4**. Nottingham: university press, 2002. 600 p.

GONTHIER, C.; MUSTAFA, A.; BERTHIAUME, F. R.; PETIT, H. V.; MARTINEAU, R.; OUELLET, D. R. Effects of feeding micronized and extruded flaxseed on ruminal fermentation and nutrient utilization by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 1854-1863, 2005.

GONZALES, F. H. D.; ROCHA, J. A. R. Metabolic profile variations and reproduction performance in holstein cows of different milk yields in southern Brasil. **Arquivo da Faculdade Veterinária, UFRGS**, v. 26, n. 1, p. 53-64, 1998.

GONZÁLEZ-ROQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J. A. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.4, p.1282-1291, 2003.

GOZHO, G. N.; MUTSVANGWA, T. Influence of carbohydrate source on ruminal fermentation characteristics, performance, and microbial protein synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 2726-2735, 2008.

GRUMMER, R. R.; HATFIELD, M. L.; DENTINE, M. R. Acceptability of fat supplements in four dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 3, p. 852-857, 1990.

GRUMMER, R. R.; LUCK, M. L. Lactational performance of dairy cows fed raw soybeans, with or without animal by-product proteins, or roasted soybeans. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 1354-1359, 1994.

HALL, M. B. Making nutritional sense of nonstructural carbohydrates. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 9., 1998, Gainesville, FL. **Proceedings...** Gainesville: Florida University, 1998. p. 108-121.

HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. Effects of fatty acid supplements on milk yield and energy balance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1081-1091, 2006.

HOEDEMAKER, M.; PRANGE, D.; ZERBE, H.; FRANK, J.; DAXENBERGER, A.; MEYER, H. H. D. Peripartal propylene glycol supplementation and metabolism, animal health, fertility, and production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 2136–2145, 2004.

HUTJENS, M. F.; SCHULTZ, L. H. addition of soybeans or methionine analog to high concentration rations for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 54, n. 11, p. 1637-1641, 1971.

INGRAHAM, R. H.; KAPPEL, L. C. Metabolic profile testing. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal**, v. 4, p. 391-411, 1988.

JENKINS, T. C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3851-3863, 1993.

JENKINS, T. C.; BRIDGES JR, W. C. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. **European Journal of Lipids Science Technologie**, v. 109, p. 778-789, 2007.

JENKINS, T. C.; JENNY, B. F. Nutrient digestion and lactation performance of dairy cows fed combinations of prilled fat and canola oil. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 3, p. 796-803, 1992.

KANEKO; J. J.; HARVERY, J. W.; BRUSS, M. C. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5. Ed. San Diego: Academic Press, 1997.

KLUSMEYER, I. H.; LYNCH, G. L.; CLARK, J. H.; NELSON, D. R. Effects of Calcium Salts of Fatty Acids and Protein Source on Ruminal Fermentation and Nutrient Flow to Duodenum of Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 2206-2219, 1991.

KNUDSEN, J.; HANSEN, H. O.; MIKKELSEN, J. M. Medium-chain fatty acids synthesis. **Biochemical Society Transaction**, v. 14, n. 3, p. 575-576, 1986.

KRAMER, J. K. G.; FELLNER, V.; DUGAN, M. E. R. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. **Lipids**, v. 32, p. 1219–1228, 1997.

KRONFELD, D. S.; DONOGHUE, S.; NAYLOR, J. M.; JOHNSON, K.; BRADLEY, C. A. Metabolic effects of feeding protected tallow to dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 63, p. 545-552, 1980.

LANA, R. P.; RUSSELL, J. B. Use of potassium depletion to asses adaptation of ruminal bacteria of ionophores. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 12, p. 4499-4503, 1996.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de Bioquímica**. 3. Ed. Barcelona: Saevier, 2005.

LEITE, L. C. **Perfil dos ácidos graxos do leite e metabolismo de lipídios no rúmen de vacas recebendo dietas com alto ou baixo teor de concentrado e óleo de soja ou de peixe.** 2006. 97 p. Tese (doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2006.

LEITE, L. C.; LANNA, D. P. D. Avanços no estudo do metabolismo de lipídeos: Perfil da gordura depositada na carne ou secretada no leite de ruminantes. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL AVANÇOS EM TÉCNICAS DE PESQUISA EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 2., Pirassununga, 2009. v. 1, p. 147-164, 2009.

LIN, H.; BOYSLON, T. D.; CHANG, M. J. et al. Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 11, p. 2358-2365, 1995.

MCDONALD, P. M.; EDWARDS, R. A.; GREENHALGH, J. F. D.; MORGAN, C. A. **Animal nutrition.** Harlow, UK: Pearson, 2002. 693p.

MEDEIROS, S. R.; OLIVEIRA, D. E.; AROEIRA, L. J. M.; MCGUIRE, M. A.; BAUMAN, D. E.; LANNA, D. P. D. The effect of long-term supplementation of conjugated linoleic acid (CLA) to dairy cows grazing tropical pasture. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 169, 2000. Supplement, 1.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, p. 1217-1240, 2002.

MIELKE, C. D.; SHINGOETHE, D. J. Heat-treated soybeans for lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 64, p. 1579, 1981.

MOALLEM, U.; KATZ, M.; ARIELI, A.; LIVSHITZ, S.; YAKOB, Y. Effects of peripartum propylene glycol or fats differing in fatty acid profiles on feed intake, production, and plasma metabolites in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 3846-3856, 2007.

MOHAMED, O. E.; SATTER, L. D.; GRUMMER, R. R.; et al. Influence of dietary cottonseed and soybeans on milk production and composition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, n. 12, p. 2677, 1988.

MORA, P. J. G.; LEÃO, M. I.; VALADARES FILHO, S. C. Grão de soja em rações para vacas lactantes: consumo dos nutrientes, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 25, n. 2, p. 369-381, 1996.

NIEMEYER, H. Bioquímica. In: NIEMEYER, H. (Ed.) **Metabolismo de Los Lipídios.** 2. Ed. Zaragoza: Inter-Médica, 1978. p. 72-91.

NOCEK, J. E. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility. A review. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2051-2069, 1988.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7. Ed. Washinton, D.C.: national academic press, 2001. 381 p.

OLIVEIRA, A. S.; VALADARES, R. F. D.; FILHO, S. C. V.; CECON, P. R.; RENNÓ, L. N.; QUEIROZ, A. C.; CHIZZOTTI, M. L. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoprotéicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1621-1629, 2001.

OLIVEIRA, N. J. F.; MELO, M. M.; LAGO, L. A.; NASCIMENTO, E. F. Nascimento hemograma, bioquímica sérica e histologia da biópsia hepática de bovinos após administração de polpa cítrica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 3, p. 418-422, 2005.

ONETTI, S. G.; GRUMMER, R. R. Response of lactating cows to three supplemental fat sources as affected by forage in the diet and stage of lactation: a meta-analysis of literature. **Animal Feed Science and Technology**, v. 115, p. 65-82, 2004.

ONETTI, S. G.; SHAVER, R. D.; MCGUIRE, M. A.; GRUMMER, R. R. Effect of type and level of dietary fat on rumen fermentation and performance of dairy cows fed corn silage-based diets. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 2751-2759 2001.

ORELLANA-BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S. M. Excretion of purine derivates in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v. 68, p. 243-250, 2001.

PALMQUIST, D. L. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 1354-1360, 1991.

PALMQUIST, D. L. The feeding value of fats. In: Orskov, e. R. (ed.). **World Animal Science**. Amsterdam: elsevier, 1988. p. 293-311.

PALMQUIST, D. L.; CONRAD, H. R. High fat rations for dairy cows. effects on feed intake, milk and fat production, and plasma metabolites. **Journal of Dairy Science**, v. 61, n. 7, p. 890-901, 1978.

PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v. 63, p. 1-14, 1980.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de lipídeos. In: BERCHIELI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Ed.) **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p. 287-310.

PALMQUIST, D. L.; MOSER, E. A. Dietary fat effects on blood insulin, glucose utilization, and milk protein content of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 64, p. 1664-1670, 1981.

PERERIRA, C. M. A.; SILVA, J. F.C.; VALADARES FILHO, S. C.; CAMPOS, J. M. S.; CECON, P. R. Grão de soja moído na ração de vacas em lactação. 1. Consumo e digestibilidade dos nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 6, p. 1218-1224, 1998.

PETIT, H. V. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 1482-1490, 2002.

PINTO, S. M. **Produção e composição química do leite de vacas holandesa no início da lactação alimentadas com diferentes fontes de lipídeos**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1997. 114p. Dissertação (mestrado em zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.

RABELLO, T. M.; VALADARES FILHO, S. C.; COELHO DA SILVA, J. F. Grão de soja moído na alimentação de vacas em lactação. Consumo, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 25, n. 2, p. 345-356, 1996.

RENNÓ, L. N. **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhos alimentados com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois de proteína**. 2003. 252 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

RENNÓ, F. P.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; GANDRA, J. F. R.; BARLETTA, R. V.; NAVES, A. B.; GAMEIRO, A. H.; VERDURICO, L. C. Grão de soja na alimentação de vacas leiteiras. In: SANTOS, M.V.; RENNO, F. P.; SILVA, L. F. P.; ALBUQUERQUE, R. **Novos Desafios da Pesquisa em Nutrição e Produção Animal**. Pirassununga: Ed. 5D, 2009. v. 1, p. 191-214.

ROMO, G. A.; ERDMAN, R. A.; TETER, B. B.; SAMPUGNA, J.; CASPER, D. P. Milk composition and apparent digestibilities of dietary fatty acids in lactating dairy cows abomasally infused with *cis* or *trans* fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2609-2619, 2000.

RUSSELL, J. B.; STROBEL, H. J.; CHEN, G. The enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, p. 872-877, 1988.

SANTOS, F. L.; LANA, R. P.; SILVA, M. T. C.; LANA, R. P.; BRANDÃO, S. C. C.; VARGAS, L. H.; ABREU, L. R. produção e composição do leite de vacas submetidas a dietas contendo diferentes níveis e formas de suplementação de lipídios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 4, p. 1376-1380, 2001.

SCHAUFF, D. J.; CLARK, J. H. Effects of feeding diets containing calcium salts of long-chain fatty acids to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2990-3002, 1992.

SCHAUFF, D. J.; ELLIOT, J. P.; CLARK, J. H.; DRACKLEY, J. K. Effects of feeding lactating dairy cows diets containing whole soybeans and tallow. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 1923-1935, 1992.

SCOTT, T. A.; COMBS, D. K.; GRUMMER, R. R. Effects of roasting, extrusion, and particle size on the feeding value of soybeans for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 25-55, 1991.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Viçosa: UFV, impr. Univ., 2002. 235 p.

SKLAN, D.; ASHKENAZI, R.; BRUN, A.; DEVORIN, A.; TABORI, K. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2463-2472, 1992

SMITH, N. E.; DUNKLEY, W. L.; FRANKE, A. A. Effects of feeding protected tallow to dairy cows in: early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 61, p. 747, 1978.

SMITH, W. A.; HARRIS, B.; VAN HORN JR., H. H.; WILCOX, C. J. Effects of forage type on production of dairy cows supplemented with whole cottonseed, tallow, and yeast. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 205-215, 1993

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. S.; et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. ii. carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.

SPANGHERO, M. Z.; KOWALSKI, Z. M. Critical analysis of n balance experiments with lactating cows. **Livestock Production Science**, v. 52, p. 113-122, 1997.

STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R. Fat supplementation strategies for lactating dairy cow diets. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BOVINOCULTURA DE LEITE, 2., 2001, lavras. **Anais...** Lavras:UFLA, 2001. p. 161-178.

STERN, M. D.; SANTOS, K. A.; SATTER, L. D. protein degradation in rumen and amino acid absorption in small intestine of lactating dairy cattle fed heat-treated whole soybeans. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 1, p. 45-56, 1985.

STORRY, J. E.; HALL, A. J.; JOHNSON, V. W. the effects of increasing amounts of dietary tallow on milk-fat secretion in the cow. **Journal of Dairy Research**, v. 40, p. 293, 1973.

TICE, E. M.; EASTRIDGE, M. L.; FIRKINS, J. L. Raw soybeans and roasted soybeans of different particle sizes. 1. Digestibility and utilization by lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 224-235, 1993.

UEDA, K.; FERLAY, A.; CHABROT, J.; LOOR, J. J.; CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage:concentrate ratios. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3999-4007, 2003.

VALADARES, R. F. D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES FILHO, S. C. Effect of replacing alfafa with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2686-2696, 1999.

VALADARES FILHO, S. C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. Viçosa, MG: UFV, 2006. 329p.

VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, D. I. Manipulation of ruminal fermentation. In: Hobson, p.n. **The ruminal microbial ecosystem**. Essex: elsevier, 1988 p.387-443.

VAN SOEST, P. J.; MASON, V. C. The influence of maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 32, n. 1, p. 45-53, 1991.

VARGAS L. H.; LANA, R. P.; JHAM, G. N.; SANTOS, F. L.; QUEIROZ, A. C.; MANCIO, A. B. Adição de lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 522-529, 2002.

VASCONCELOS, A. M.; LEÃO, M. I.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D.; DIAS, M.; MORAIS, D. A. E. F. Parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados e produção microbiana de vacas leiteiras alimentadas com soja e seus subprodutos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 2, p. 425-433, 2010.

WEISS, W. P.; CONRAD, H. R.; PIERRE, N. R. S. T. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. **Animal Feed Science Technology**, v. 39, p. 95-110, 1992

WONSIL, B. J.; HERBEIN, J. H.; WATKINS, B. A. Dietary and ruminally derived *trans*-18:1 fatty acids alter bovine milk lipids. **Journal of Nutrition**, v. 124, p. 556-565, 1994.

WU, Z.; HUBER, J. T. Relationship between dietary fat supplementation and milk protein concentration in lactating cows: a review. **Livestock Production Science**, v. 39, p. 141-155, 1993.

WU, Z.; HUBER, J. T.; CHAN, S. C.; SIMAS, J. M.; CHEN, K. H.; VARELA, J. G.; SANTOS, C.; FONTES JR., C.; YU, P. Effect of source and amount of supplemental fat on lactation and digestion in cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 1644-1651, 1994.