ANAÍ BACCI NAVES

Grão de soja integral e moído na alimentação de vacas leiteiras

PIRASSUNUNGA

2010

ANAÍ BACCI NAVES

Grão de soja integral e moído 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.

BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP

24/11/10

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

T.2377
FMVZ

Naves, Anaí Bacci

Grão de soja integral e moído na alimentação de vacas leiteiras / Anaí Bacci
Naves. -- 2010.
88 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. 3. Produção e composição do leite.
4. Digestibilidade. 5. Parâmetros sanguíneos. I. Título.

ERRATA

NAVES, A. B. Grão de soja integral e moído na alimentação de vacas leiteiras. 2010. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

Folha	Parágrafo	Onde se lê	Leia-se
Ficha catalográfica	3	88 f.	86 f.
Resumo	1	88f.	86 f.
Abstract	1	88f	86 f.

COMISSAO DE BIOÉTICA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão Bioética

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: NAVES, Anaí Bacci

Título: Grão de soja integral e moído 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: _____

Ao meu esposo José Afonso, que durante todo este tempo (19 anos) nunca deixou de estar ao meu lado, participando dos momentos de alegria e me incentivando nos momentos de preocupação, com todo seu amor e compreensão.

Dedico este trabalho com imenso amor e gratidão

AGRADECIMENTOS

Ao meu esposo José Afonso, que sempre acreditou nos meus sonhos.

À Deus, pelo Dom da vida, que me deu.

Aos meus pais Ana Maria e Nelson, e meus irmãos Eriberto e Hermes pelo amor e compreensão em todos esses anos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Francisco Palma Rennó, que sempre mostrou o melhor caminho a seguir.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), 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.

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 Vovozinho Adelmo e a Vovozinha Aline pelo seu imenso amor e carinho.

Aos colegas de mestrado Rafael (Bizão) e Lenita, e os estudantes de Iniciação Científica Renata (Alemão) e Rodolfo (Badá) pela imprescindível, incontestável, e essencial ajuda em todas as etapas para conclusão deste trabalho.

Aos colegas, futuros Doutores, Jefferson (Fronfrom) e José Ésler, por toda ajuda, dedicação e auxílio durante todas as fases e principalmente nas análises dos resultados.

Ao Sr. Antônio Carlos Bueno da Silva (Carlinhos) funcionário responsável do Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite, e aos funcionários Paulo e João (Jota) pela colaboração;

Aos colegas do grupo de pesquisa, Ana Paula, Beatriz, Mayara, Gustavo Calomeni, Rodrigo Gardinal, pela ajuda dispendida.

A todos os professores do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP).

Aos funcionários da Secretaria do VNP, Sr. José Francisco M. Ferreira e Sra. Alessandra de Cássia T. da Silva, pelo apoio e atenção dispensados.

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

A 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 meus colegas de mestrado, Elmeson (Mineirinho), Alejandro, Jú Naves, Jú Barreiro, Cássia, Daniela Gerônimo, Tarley, Marília, Nara, Felipe Marinho obrigada pela convivência e ensinamento durante este período que estivemos juntos.

A todos os estagiários que me auxiliaram na realização deste trabalho, em especial a 74ª Turma da FMVZ-USP, especialmente Thiago (Catimbó) e Débora (Porca). Também ao Eduardo Tonon (Pernilongo) que de forma incessante, contribuíram ativamente para realização do experimento.

Momentos felizes louvem a Deus
Momentos difíceis recorram a Deus
Momentos silenciosos adorem a Deus
Momentos dolorosos confiem em Deus
Cada momento, graças a Deus

RESUMO

NAVES, A. B. **Grão de soja integral e moído na alimentação de vacas leiteiras.** [Whole and ground soybeans in diet of dairy cows]. 2010. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da utilização de grão de soja integral e moído em diferentes peneiras, sobre o consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes; fermentação e síntese de proteína microbiana ruminal, produção e composição do leite, perfil de ácidos graxos do leite, concentrações de parâmetros sanguíneos e balanço de energia e nitrogênio. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa, agrupadas em três quadrados latinos balanceados e contemporâneos 4x4, alimentadas com as seguintes rações: 1) controle (C); 2) grão de soja integral (GI), 3) grão de soja moído em peneira de 2 mm (G2), e 4) grão de soja moído em peneira de 4 mm (G4). Nas rações GI, G2 e G4 foram utilizados 20% de grão de soja na material seca. 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, matéria orgânica e FDN nas vacas suplementadas com as rações contendo grão de soja em relação à ração controle. Foi observado efeito no consumo de EE onde as vacas que receberam as rações contendo grão de soja apresentaram maiores valores de consumo deste nutriente. Houve diferença na digestibilidade aparente total dos nutrientes entre as rações experimentais, sendo que as dietas com grão de soja apresentaram aumento da digestibilidade do EE e o processamento do grão também influenciou a digestibilidade, pois foram observados maiores valores para o grão processado em relação ao grão integral. Não houve diferença das rações experimentais para os valores de pH ruminal e concentração de N-NH₃ ruminal entre as rações utilizadas. A produção e composição do leite, bem como o PAG da gordura do leite não foram influenciadas pelas rações experimentais. As concentrações de colesterol total e colesterol - HDL foram maiores para as vacas alimentadas com rações contendo grão de soja em relação à ração controle. As rações utilizadas não influenciaram a síntese de proteína microbiana. O balanço de energia e nitrogênio não foi influenciado pelas rações experimentais. A utilização de grão de soja integral ou processado nas rações altera o

consumo, sem com tudo influenciar o desempenho produtivo e metabolismo de vacas em lactação.

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

ABSTRACT

NAVES, A. B. **Whole and ground soybeans in diet of dairy cows** [Grão de soja integral e moído na alimentação de vacas leiteiras]. 2010. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

This study carried out to evaluate the effects the use of whole soybean grain and milled in different screens, on the intake and digestibility of dry matter and nutrients, fermentation and rumen microbial protein synthesis, yield and milk composition, fatty profile of the milk concentration of blood parameters and energy balance nitrogen. Twelve Holstein cows were allocated in three balanced Latin square balanced and contemporary 4x4, and fed with the following diets: 1) control (C), 2) whole soybean (G1), 3) ground in sieve of 2 mm (G2), and 4) ground soybean in sieve of 4 mm (G4). In the G1, G2 and G4 diets were used 20% of soybean in the dry matter. The sample used for analyzing the milk composition were collected on the 16th day of each period, and from the two milkings. Blood samples used were collected in tubes vacuolated by venipuncture and / or coccygeal artery. Samples of rumen fluid were collected with use of esophageal gavage three hours after the morning feeding. The digestibility was determined through of an internal indicator iADF. A reduction in dry matter intake, organic matter and NDF in cows fed with diet containing soybean in relation to the control diet. Effect was observed in the consumption of EE where the cows that received diets containing soybean showed higher intake of this nutrient. Differences in total apparent digestibility of the nutrients between the experimental diets, and diets with soybean showed an increase in EE digestibility and grain processing also affected the digestibility, a was observed higher values for grain processed against the whole grain. There was no difference in the experimental diets, and diets for the values of pH and NH₃-N concentration between diets used. The yield and milk composition, and the FAP of milk fat were not influenced by experimental diets. The concentrations of total cholesterol and HDL-cholesterol were higher for cows fed with diets containing soybean in relation to the control diet. The ration used did not affect microbial protein synthesis. The energy balance and nitrogen were not influenced by experimental diets. The use of whole soybean or processed in diets changes in composition without influencing the performance and metabolism in dairy cows.

Key-word: Dairy cows. Soybeans. Yield and milk composition. Digestibility. Blood parameters.

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1- Proporção dos ingredientes do concentrado, expressa na matéria seca (%MS).....	41
Tabela 2- Composição percentual dos ingredientes nas rações, expressa na matéria seca (%MS).....	42
Tabela 3- Composição químico bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais.....	42
Tabela 4- Composição químico bromatológico dos concentrados e da silagem das dietas experimentais.....	43
Tabela 5- composição químico bromatológico dos concentrados das dietas experimentais.....	43
Tabela 6- Composição dos ácidos graxos dos ingrediente.....	44
Tabela 7- Consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes em função das rações experimentais.....	56
Tabela 8 – Parâmetros de fermentação ruminal em função das rações experimentais...	59
Tabela 9- Síntese de proteína microbiana de acordo com as rações experimentais.....	61
Tabela 10- Desempenho produtivo em função das rações experimentais.....	63
Tabela 11- Perfil de ácidos graxos de acordo com as rações experimentais.....	66
Tabela 12- Perfil metabólico plasmático de acordo com as rações experimentais.....	68
Tabela 13- Balanço de nitrogênio em função das rações experimentais.....	70
Tabela 14- Balanço de energia em função das rações experimentais.....	71

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

AG	Ácidos Graxos
AGL	Ácidos Graxos Livres
AGPI	Ácidos Graxos Poliinsaturados
AST	Aspartato Aminotranferase
BE	Balanco de Energia
BN	Balanco de Nitrogênio
CD	Coefficiente 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
GSI	Grão de Soja Integral
G2	Grão de Soja 2 mm
G4	Grão de Soja 4 mm
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
JDS	Journal of Dairy Science

MN	Matéria Natural
MO	Matéria Orgânica
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

SUMÁRIO

	Pág.
1 INTRODUÇÃO.....	17
2 HIPÓTESE.....	19
3 OBJETIVO.....	20
4 REVISÃO DE LITERATURA.....	21
4.1 Fontes de Gordura para Vacas em Lactação.....	21
4.2 Grão de Soja para Vacas Leiteiras.....	23
4.2.1 Consumo.....	28
4.2.2 Digestibilidade Aparente Total.....	30
4.2.3 Fermentação Ruminal.....	31
4.2.4 Síntese de Proteína Microbiana.....	32
4.2.5 Produção e Composição do Leite.....	34
4.2.6 Perfil de Ácidos Graxos.....	35
4.2.7 Parâmetros Sangüíneos.....	38
4.3 Processamentos Físico de Alimentos.....	39
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
5.1 Local Instalações e Animais.....	40
5.2 Rações Experimentais e Análise de Alimentos.....	41
5.3 Análise de Alimentos.....	44
5.4 Digestibilidade Aparente Total.....	45
5.5 Balanço de Energia e Nitrogênio.....	46
5.6 Fermentação Ruminal.....	48
5.7 Síntese de Proteína Microbiana.....	49
5.8 Produção e Composição do Leite.....	50
5.9 Perfil de Ácidos Graxos.....	51
5.10 Parâmetros Sangüíneos.....	52
5.11 Análise Estatística.....	53
6 Resultados e Discussão.....	54
6.1 Consumo e Digestibilidade Aparente Total.....	54
6.2 Fermentação Ruminal.....	58
6.3 Síntese de Proteína Microbiana.....	60

6.4 Produção e Composição do Leite.....	62
6.5 Perfil de Ácidos Graxos do Leite.....	64
6.6 Parâmetros Sangüíneos.....	67
6.7 Balanço de Nitrogênio.....	69
6.8 Balanço de Energia.....	70
7 CONCLUSÃO.....	73
REFERÊNCIAS.....	74

1 INTRODUÇÃO

A utilização de fontes de gordura é prática que vem sendo bastante utilizada e pode proporcionar diversos benefícios nutricionais para vacas leiteiras. A gordura pode aumentar a densidade energética da dieta, melhorar a eficiência energética de produção de leite, conter ácidos graxos essenciais e melhorar a absorção de compostos lipossolúveis.

Após o parto, as vacas leiteiras de alta produção demandam grandes quantidades de nutrientes para a síntese do leite. Para que esses nutrientes sejam supridos, é necessário que ocorra elevado consumo de alimentos de boa qualidade e de alta densidade energética. Porém, neste momento de maior necessidade, a vaca apresenta menor consumo de matéria seca, o que faz com que sua necessidade seja maior que a ingestão de nutrientes, fazendo com que as mesmas permaneçam por longo tempo em balanço energético negativo.

Várias fontes de lipídeos têm sido extensamente pesquisadas, como sementes oleaginosas, tais como algodão e soja. O grão de soja contém aproximadamente 19,2% de extrato etéreo (EE), 39,2% de proteína bruta (PB) e 84,5% de nutrientes digestíveis totais (NDT) (NRC, 2001; VALADARES FILHO; MAGALHÃES; ROCHA JÚNIOR, 2006).

Entre as vantagens de uso do grão de soja integral como fonte de gordura pode ser citada a lenta liberação de lipídios no rúmen, não superando a capacidade de hidrogenação dos microrganismos ruminais, impedindo possível perda de digestibilidade de fibra pelo efeito negativo que gorduras insaturadas prontamente disponíveis no rúmen podem causar nas bactérias fibrolíticas (COPPOCK; WILKS, 1991; PALMQUIST, 1991). Isso ocorre em sementes de oleaginosas porque a maioria dos lipídios encontra-se no germe e, portanto, há necessidade da degradação da parede celular para que a hidrólise se inicie.

No que diz respeito às 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 custos compatíveis com seu rico conteúdo de nutrientes. 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.

Como a soja possui 10% mais energia líquida por quilo de matéria seca que o farelo de soja (VARGAS et al., 2002) e é cultivada em todo o território nacional, a substituição do farelo de soja pelo grão de soja pode ser vantajosa, desde que não haja diminuição na produção de leite e que o preço seja vantajoso. 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. Também, pelo elevado teor de extrato etéreo, pode ser considerado alimento fonte de gordura para ruminantes. O grão de soja cru integral ainda destaca-se pelo elevado teor de ácidos graxos insaturados e pela grande aceitação pelos animais (PALMQUIST; CONRAD, 1978; PALMQUIST, 1991; RABELLO; VALADARES; COELHO DA SILVA, 1996; PALMQUIST; MATTOS 2006).

Porém, a utilização do grão de soja cru na alimentação de ruminantes tem sido evitado devido à presença de substâncias tóxicas, estimulatórias ou inibitórias, incluindo fatores alergênicos e anticoagulantes. Entretanto, a maior parte destas substâncias não apresenta problemas aos ruminantes, pois são metabolizadas ou desativadas durante o processo de digestão, sendo a maior preocupação para a utilização de grão de soja cru na alimentação de ruminantes a presença de fatores que inibem a atividade da tripsina e quimiotripsina. A presença destes fatores apresenta potencial de reduzir a digestibilidade da proteína na dieta e aumentar a excreção de nitrogênio.

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. 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 necessária 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 está claro na literatura a 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 integral e moído, em condições semelhantes às encontradas nas fazendas brasileiras, a fim de contribuir com informações que possam ser úteis na tomada de decisões pelos produtores de leite.

2 HIPÓTESE

A hipótese a ser avaliada neste trabalho de que foi a utilização de grão de soja integral em rações de vacas em lactação, em comparação com o grão de soja moído em diferentes peneiras, não influencia negativamente a digestão e o desempenho produtivo de vacas leiteiras.

3 OBJETIVO

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes formas de utilização de grão de soja, integral e moído em diferentes peneiras, 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 do leite, concentrações de parâmetros sanguíneos e balanço de energia e nitrogênio.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Fontes de Gordura para Vacas Leiteiras

As gorduras são compostos orgânicos formados por carbono, hidrogênio e oxigênio. Constituem-se na fonte mais concentrada de energia nos alimentos. O termo gordura consiste em definição genérica usada para compostos que possuem ácidos graxos de cadeia longa. Os 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 sistemas biológicos, raramente na forma livre, sendo tipicamente encontrados ligados a molécula de glicerol ou outras estruturas que se ligam ao carbono terminal (LEHNINGER, 2005).

Os ácidos graxos por sua vez, são classificados em ácidos graxos saturados ou insaturados. Os ácidos graxos saturados possuem todos os carbonos com ligações simples, os ácidos graxos insaturados com uma ou mais ligações duplas, este pode ser classificado como monoinsaturado, e se 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 do carboidrato 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.

Os lipídeos em dietas de ruminantes estão presentes principalmente na forma esterificada como mono e digalactoglicerídeos em forragens e como triglicerídeos em alimentos concentrados (OLIVEIRA, 2001). A suplementação de gordura nas rações de ruminantes tem as seguintes vantagens: aumentar a ingestão de energia em vacas de alta produção; reduzir o consumo de amido, possibilitando aumentar assim a relação volumoso concentrado da dieta reduzindo a incidência de distúrbios da fermentação ruminal, o que pode ter reflexos positivos na produção de gordura do leite; disponibilidade comercial de fontes de boa qualidade; aumento da eficiência do uso de energia em decorrência de menor incremento calórico; aumento da flexibilidade para o preparo da ração; utilizados para modificação da composição da gordura do leite ou de tecido para aceitação pelo consumidor e aumento da absorção de nutrientes solúveis (NRC, 2001; PALMQUIST; MATTOS, 2006).

Segundo Staples, Thatcher e Mattos (2001), 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.

Entre as fontes de gordura utilizadas nas rações de vacas em lactação podem ser citadas as de origem animal (sebo, banha), as de origem vegetal, tais como as sementes e oleaginosas (algodão, girassol e soja) e fontes de gordura protegida (sais de cálcio de ácidos graxos), (RABELLO; VALADARES; COELHO DA SILVA, 1996).

Com relação à utilização da gordura animal, um fator a ser considerado é que a epidemiologia da encefalite espongiforme bovina e a necessidade da manutenção da situação sanitária do Brasil em relação a essa doença, o Ministério da Agricultura e Pecuária – MAPA, através da Instrução Normativa nº15, datada de 17/07/2001 proibiu em todo território nacional a produção, a comercialização e a utilização de produtos destinados à alimentação de ruminantes que contenham em sua composição proteína e gordura de origem animal. Desse modo, no momento está proibida a utilização de sebo no Brasil (LÓPEZ; LÓPEZ; STUMPF JR., 2007).

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 Staples, Thatcher e Mattos (2001) e Grummer (2004), 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.

4.2 Grão de Soja para Vacas Leiteiras

A utilização do grão de soja cru 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. Analisando 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), é possível de ser observado que estes estudos seguiram determinada linha de raciocínio, por diversas vezes semelhante (RENNÓ et al., 2009).

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).

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 que fossem mais inertes no ambiente ruminal, notadamente os sais de cálcio de ácidos graxos, hoje amplamente utilizados. 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 (RENNÓ et al., 2009).

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.

Segundo Rennó et al. (2009), 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 quantidade de proteína, de alta degradabilidade, e da presença de fatores anti-nutricionais, que teriam o potencial de reduzir o aproveitamento de nutrientes. Apesar de a preocupação existir, não está claro na literatura a partir de que nível nas rações a presença do grão de soja cru poderia influenciar a eficiência de utilização do nitrogênio ou aproveitamento de nutrientes dietéticos. De forma semelhante, também não se tem conhecimento de, a partir da definição do nível adequado de utilização de grão de soja cru nas rações de vacas em lactação, qual a melhor forma de inclusão do grão de soja no concentrado, se integral ou moído, sendo também interessante a avaliação desta forma de inclusão.

Dhiman e Satter (1997) avaliaram o consumo de matéria seca do grão de soja integral (GSI) e o grão de soja tostado em vacas leiteiras e, lactação com média de 36,0 kg/dia e 150 dias de lactação. Estes autores não verificaram diferenças do consumo de matéria seca entre o GSI 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 aos microrganismos para o processo de degradação.

Scott, Combs e Grammer (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 30,5 kg/dia. O grão de soja avaliado foi laminado, moído, moído associado a resíduos de cervejaria seco tostado e extrusado. As dietas formuladas forneceram média 4,0 kg/dia de grão de soja por vaca, com exceção para dieta composta por grão de soja associado a resíduos de cervejaria seco que os animais tiveram acesso a menor quantidade de grão de soja. Não foi observado alterações na produção e composição do leite

para as dietas que utilizaram grão de soja para o menor nível de processamento, seja moído ou laminado, quando comparado com outras forma de processamento do grão.

De acordo com Scott, Combs e Grammer (1991), concluíram que a utilização do grão de soja como fonte de energia para alimentação de vacas em lactação, não existe diferenças entre as formas de processamento sejam elas: laminação, moagem, tostagem e extrusão, especialmente para produção e composição do leite. Segundo os mesmos, os dados sugerem ser possível fornecer maior quantidade de grão de soja na alimentação de vacas leiteiras em relação ao comumente recomendado, desde que as dietas forem fornecidas por meio de misturas completas.

Em estudos realizados por 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 cru moído grosseiramente. Foi observado aumento de produção de leite e redução o teor de gordura e proteína do leite quando foi comparado o desempenho das vacas alimentadas com grão de soja tostado em relação à dieta com farelo de soja ou grão de soja cru moído grosseiramente. No entanto, não foi observado diferença entre as dietas farelo de soja e grão de soja moído sobre a produção e composição do leite e consumo.

Grummer e Luke (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 à 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), Falder e Satter (1991) e Scott, Combs e Grammer (1991) demonstraram o potencial de utilização do grão de soja cru integral ou moído na alimentação de vacas leiteiras. Como pode ser observado 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 cana de açúcar, de sorgo 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.

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), ele utilizou 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 cru, triturada grosseiramente, sendo equivalente no concentrado a 0, 20% e 40% de grão de soja. O volumoso utilizado foi à 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 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 no concentrado. Também não observou efeito sobre a 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%).

Duarte et al. (2005) 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 à 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 sebo em relação à 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 (2008) avaliou 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 à silagem de milho na relação volumoso/concentrado de 50/50.

Freitas Júnior (2008) observou 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 corrigida, 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) e Santos et al. (2001), Duarte et al. (2005) e Freitas Junior (2008), verifica-se que 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.

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 consumo de matéria seca menor que os animais que receberam a dieta controle. Porém, no mesmo estudo, as vacas que receberam grão de soja integral apresentaram maior consumo de matéria seca 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.

4.2.1 Consumo

Dois principais pontos devem ser destacados quando se analisa alterações no consumo de matéria seca 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 pode não representar a realidade; 2) tipo de nível de suplemento de gordura utilizado, pois respostas diferentes são observadas de acordo com as características químicas e físicas da gordura utilizada (FREITAS JÚNIOR, 2008).

Os resultados referentes ao consumo de matéria seca em vacas leiteiras suplementadas com 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 conseqüentemente diminuição do consumo de matéria seca. No entanto, é preciso considerar que quando se avalia o consumo de matéria seca 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 consumo de matéria seca ainda não está definitivamente 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 ácidos graxos sejam as principais razões da inibição de consumo.

Duarte et al. (2005) avaliaram a suplementação com diferentes fontes de gorduras, concentrado com inclusão de sebo, concentrado com inclusão de gordura protegida comercial (sais de cálcio e óleo de palma) e concentrado com a inclusão de grão de soja integral triturada, para vacas Jersey, e não observaram efeitos das dietas sobre o consumo de matérias seca.

Dhiman e Satter (1997) avaliaram o consumo de matéria seca do GSI 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 GSI 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.

De acordo com NRC (2001), para dietas contendo de 5 a 6% de ácidos graxos na matéria seca, a adição de óleo de sementes e ácidos graxos parcialmente hidrogenados reduziram o consumo de matéria seca. Dhiman et al. (2000) e Chilliard et al. (2003), no entanto, verificaram que não houve diferença no consumo de matéria seca com a inclusão de 4 a 6% de óleo na matéria seca.

Entretanto, as respostas à suplementação em certos estágios de lactação podem representar maiores ou menores alterações no consumo de matéria seca, pois, independentemente da suplementação de gordura, reduções de consumo podem ser esperadas em fase críticas do ciclo produtivo, como o início da lactação.

4.2.2 Digestibilidade Aparente Total

São vários os fatores que podem influenciar a digestibilidade dos nutrientes da dieta, quando utilizamos a gordura como fonte suplementar, isso ocorre devido à característica do suplemento e sua forma de utilização, bem como o nível e o 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 lipídeos 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 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.

Pereira et al. (1998) avaliaram a inclusão de 30% de grão de soja moído no concentrado na alimentação de vacas multíparas recém paridas, com graus de sangue variados. A silagem de milho foi fornecido à vontade durante todo o período experimental, permitindo sobra equivalente a 10% do total fornecido. A ração concentrada com 30% de grão de soja moído apresentou os menores coeficientes de digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta. Mora (1995) encontrou resultados diferentes, usando níveis semelhantes de grão de soja e silagem de milho, não encontrou efeito significativo para os coeficientes de digestibilidade aparente.

Schauff et al. (1992), em experimento com grão de soja integral e sebo bovino (2,5 e 4%), observaram que as digestibilidades de MS, MO, celulose, conteúdo celular e PB diminuíram, quando gordura foi adicionado à dieta. Entretanto, as digestibilidades de FDA, FDN e hemicelulose não foram afetadas.

Mora, Leão e Valadares Filho (1996) avaliaram vacas de 26 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. 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.

Faichney et al. (2002) demonstrou que a digestibilidade aparente total foi compensada parcialmente pelos efeitos negativos na degradabilidade ruminal quando foi utilizada fontes de gorduras insaturadas como fonte de energia.

4.2.3 Fermentação Ruminal

Segundo Bergman (1990), os produtos finais da fermentação ruminal são parcialmente determinados pela natureza da dieta, que pode mudar a atividade metabólica dos microrganismos, promovendo novos ou diferentes substratos que influenciam a quantidade e a natureza desses produtos. A mudança da dieta do animal resulta num período de transição na população ruminal, em que a proporção das diferentes espécies ruminais variam para um novo balanço, que melhor se ajuste as mudanças dietéticas. Esse fato refere-se à adaptação da população que pode demorar dias ou semanas, dependendo de quanto drástica é a mudança na dieta (OWENS; GOETSCH, 1993).

Quando lipídeos são adicionados nas rações de ruminantes podem afetar a fermentação ruminal causando a redução da digestibilidade dos nutrientes da dieta. A digestão ruminal dos carboidratos estruturais pode ser reduzida em 50% quando menos de 10% de gordura é adicionada 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).

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 comparado principalmente pela capacidade da forragem em manter o funcionamento normal do rúmen (PALMQUIST, 1988). 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 mudança na população bacteriana no rúmen, favorecendo microrganismos responsáveis pela formação de *trans*-10, *cis*-12 CLA, e isômeros *trans* C18:1, ou seja,

favorecendo o processo de biohidrogenação que causa a formação de CLA específico, reduzindo a síntese de gordura no leite (BAUMMAN; GRIINARI, 2001).

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 à silagem de milho. Ueda et al. (2003) avaliaram a 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.

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 (ONETTI et al., 2001). Outros fatores que podem influenciar a suplementação de gordura na dieta, é fase na qual se iniciou a suplementação, que pode influenciar mudanças do padrão de fermentação ruminal.

Segundo Palmquist e Mattos (2006) as fontes de gordura, especialmente as que estão na forma protegida da degradação ruminal, como os sais de cálcio de ácidos graxos, 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.

4.2.4 Síntese de Proteína Microbiana

A síntese de proteína microbiana no rúmen é de vital importância para a saúde e produtividade de animais ruminantes (PEHRSON, 2002). Mensuração desse processo é complexo, dispendioso e questionável do ponto de vista do bem estar animal, por utilizar animais fistulados. Resultados promissores têm sido obtidos pela estimativa de síntese microbiana a partir da concentração de derivados de purina, em especial a alantoína na urina e no leite, que são produtos da degradação de ácidos nucleicos em quase sua totalidade dos microrganismos do rúmen (PEHRSON, 2002).

Excesso de lipídeos na dieta provoca, dentre outros efeitos, a redução de síntese microbiana, seja pelos efeitos tóxicos sobre os microrganismos, ou ainda por diminuição na quantidade de carboidratos prontamente disponíveis para a fermentação devido à substituição parcial da energia proveniente do concentrado pela energia da gordura (COSTA, 2008).

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; BOYSLON; CHANG, 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.

De acordo com Palmquist (1993) e Van Soest e Mason (1991) a eficiência microbiana como conseqüência da utilização de gordura pode ser comprometida pela diminuição da quantidade de carboidratos rapidamente fermentáveis reduzindo dessa forma a quantidade de substrato disponível para a síntese de proteína microbiana (SPM). Entretanto, alguns estudos observados na literatura têm demonstrado diferentes resultados com a utilização de suplementos de gordura em rações de vacas leiteiras. Em 12 estudos que avaliaram a suplementação de gordura e seus efeitos sobre a SPM, as fontes de gordura não reduziram a eficiência de síntese microbiana e em alguns casos promoveu o seu aumento (DOREAU; CHILLIARD, 1997; GOZHO; MUTSVANGWA, 2008).

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 submetidos a níveis crescentes de ionóforos *in vitro*.

4.2.5 Produção e Composição do Leite

Os processos metabólicos que regulam a produção e a composição do leite são controlados pela quantidade e qualidade dos nutrientes absorvidos e o uso destes nutrientes pelos diferentes tecidos, os quais serão controlados por grande número de hormônios (LANNA; MEDEIROS, 2000).

Segundo o NRC (2001), 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.

A proporção de cada componente no leite está influenciando, em diferentes graus, pela nutrição da vaca. Assim, a alimentação responde por aproximadamente 50% das variações de gordura e proteínas do leite, porém praticamente não afeta o conteúdo de lactose (GONZÁLES, 2001). 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).

Entretanto, as diferentes fases de lactação podem influenciar o aproveitamento de energia devido ao balanço energético em que se encontra o animal. Onetti e Grummer (2004) observaram que vacas no início da lactação aproveitaram com melhor eficiência o aumento da densidade energética das rações suplementadas com gordura em relação às vacas no terço médio de lactação, atribuindo tal fato as diferenças na partição de nutrientes e possivelmente ao balanço energético dos animais.

Com a suplementação de gordura nas dietas, o teor de gordura e a proteína do leite, são as frações sujeitas às maiores alterações. A quantidade de gordura dietética transferida diretamente para a gordura do leite é influenciada principalmente por três fatores: biohidrogenação ruminal, absorção (digestibilidade) e deposição de tecido adiposo (PALMQUIST; WEISBJERG; HVELPLUND, 1993).

A biohidrogenação tem um papel de proteção para os microrganismos do efeito tóxico exercido pelos ácidos graxos insaturados (OLIVEIRA, 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 (BAUMAN; GRIINARI, 2001).

Segundo Mühlbach et al. (2000), o consumo adequado de volumoso também garante um teor normal de gordura no leite, pois com a fermentação da fibra no rúmen são produzidos os ácidos acético e butírico, dos quais é formada no úbere 50% da gordura do leite.

A redução de proteína do leite com a utilização de gordura na dieta é por vezes citada na literatura (ROMO et al., 2000; DELBECCHI et al., 2001; WU et al., 1994; WU; HUBER,

1993) e algumas hipóteses são discutidas procurando explicar qual a razão deste decréscimo. A explicação mais difundida envolve o aumento no fornecimento de energia e o suprimento de aminoácido, onde este suprimento não consegue atender a demanda para a síntese protéica na mesma extensão em que aumenta o consumo de energia pelos animais (CANT; DEPERTS; BALDWIN, 1993).

Outra hipótese 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 nas 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 a síntese de proteína do leite.

4.2.6 Perfil de Ácidos Graxos no Leite

Com o objetivo de se agregar valor ao leite, tem-se intensificado pesquisas na área de manipulação não apenas na composição em termos de gordura e proteína, mas também quanto ao perfil de ácidos graxos da gordura do leite (LICHTENSTEIN et al., 1998). O consumo de produtos de origem animal, em grande parte está associado a uma alta ingestão de gordura saturada, conferindo a tais produtos uma imagem negativa sob o ponto de vista da saúde humana, uma vez que o consumo de gordura saturada está possivelmente ligado a um aumento na incidência de doenças cardiovasculares (TYMCHUK; KHORASANI; KENNELLY, 1998; LICHTENSTEIN et al., 1998).

Segundo Oliveira (2001), a gordura do leite contém normalmente alto nível de gordura saturada, e este perfil tende a manter uma independência em relação à gordura suplementar em consequência das transformações ocorridas no rúmen. Vários autores desenvolveram ensaios utilizando vacas em lactação submetidas à dieta com diversas fontes de gordura, diferenciando em sua composição de ácidos graxos, por meios que provocassem uma alteração no metabolismo do rúmen procurando avaliar o efeito sobre a composição de ácidos graxos da gordura do leite.

A gordura no leite é composta por 97-98% de triglicerídeos, sendo o restante formado por fosfolipídios 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 à glândula mamária através da circulação sanguínea (DEMEYER; DOREAU, 1999).

A síntese de novo ocorre a partir do acetato 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 à 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 (NEFA) ou das lipoproteínas ricas em triglicerídeos (quilomícron e lipoproteína de muito baixa densidade – VLDL). O uso do NEFA pela glândula mamária é diretamente relacionado à sua concentração sanguínea, 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 à biohidrogenação promovida pelas bactérias ruminais. Ácidos graxos de cadeia ímpar ou ramificada podem também aparecer dentro como origem a 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 (ÁVILA et al., 2000). 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.

4.2.7 Parâmetros Sanguíneos

O estudo de metabólitos sangüíneos específicos (perfil metabólico) é importante para diagnosticar transtornos do metabolismo, servindo também como um indicador do estado nutricional. O conhecimento das variações na concentração sangüínea de metabólitos específicos ajuda a explicar as respostas zootécnicas e metabólicas observadas mediante o fornecimento de lipídeos na dieta de vacas em lactação (GAGLIOSTRO; CHILLIARD, 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. Gonzáles 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 deitas 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 (GONZÁLES; 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.

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 (2002), avaliou 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.

Em estudos realizados por Freitas Júnior et al. (2010a), onde avaliaram várias fontes de gordura na ração de vacas leiteiras, não observaram alterações nas concentrações plasmáticas de glicose, e triglicerídeos no soro, colesterol-VLDL, proteínas totais, albumina, AST, gama glutamil transferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA).

4.3 Processamentos Físico de Alimentos

Do volume de soja em grão anualmente ofertado nas safras, a maior parte do grão disponível (aproximadamente 61,7%) é destinada ao esmagamento nas indústrias nacionais, enquanto 33,7% dos grãos são exportados e 4,6% representam sementes e perdas (CANZIANI; GUIMARÃES, 2002). Na industrialização da soja, o farelo é produzido com rendimento de 76,5% o que representa no Brasil, dois terços dos farelos protéicos utilizados na alimentação animal (EMBRAPA, 2004).

O consumo de grãos processados, como floculado ou laminado, altera o padrão de fermentação ruminal de forma benéfica ao animal, com maior produção de propionato e conseqüente maior produção de glicose através do processo de gluconeogênese (THEURER, HUBER e DELGADO-ELORDUY, 1999).

A moagem é sem dúvida, a técnica de processamento mais antiga aplicada aos grãos destinados à alimentação animal. Na maioria das situações, a moagem é necessária para obtenção de mistura homogênea dos ingredientes para outras técnicas de processamento (PERRY; CECAVA, 1995).

Moer ou triturar o grão melhora aparentemente a digestibilidade do amido no trato total em comparação ao grão inteiro (GALYEAN; WAGNER; OWENS, 1979; TURGEON; BRINK; BRITTON, 1983) aumentando-se a degradação ruminal do alimento pelo aumento da superfície de ação dos microrganismos ruminais (PRIGGE; GALYEAN; OWENS, 1978).

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 quantidade de proteína, de alta degradabilidade, e da presença de fatores anti nutricionais, que teriam o potencial de reduzir o aproveitamento de nutrientes. Apesar de a preocupação existir, não está claro na literatura a partir de que nível nas rações a presença do grão de soja cru poderia influenciar a eficiência de utilização do nitrogênio ou aproveitamento de nutrientes dietéticos. De forma semelhante, também não se tem conhecimento de, a partir da definição do nível adequado de utilização de grão de soja cru nas rações de vacas em lactação, qual a melhor forma de inclusão do grão de soja no concentrado, se integral ou moído, sendo também interessante a avaliação desta forma de inclusão.

5 MATERIAL 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 26 de agosto a 17 de novembro de 2009. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa, com lactação média inicial de 121 dias e lactação média final de 190 dias, foram 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 540 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 (GI), 3) Grão de soja moído 2 mm (G2), e 4) Grão de soja moído 4 mm (G4). Nas rações GI, G2 e G4 foram utilizados 20% de grão de soja na material seca, respectivamente, na forma de grão de soja integral, grão de soja moído em peneira de 2mm e em peneira de 4 mm. 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 nos concentrados, expressa na matéria seca (%MS)

Ingredientes ¹	Concentrados experimentais ²			
	C	GI	G2	G4
Milho moído	54,48	37,69	37,69	37,69
Farelo de soja	37,76	15,18	15,18	15,18
Grão de soja	-	40,55	40,55	40,55
Uréia pecuária	1,04	-	-	-
Sulfato de amônia	0,20	-	-	-
Bicarbonato de sódio	1,60	1,62	1,62	1,62
Óxido de magnésio	0,18	0,18	0,18	0,18
Mistura mineral ³	3,97	4,01	4,01	4,01
Calcáreo	0,28	0,28	0,28	0,28
Sal comum	0,48	0,49	0,49	0,49

¹ % matéria seca; ² C=controle; GI=grão de soja integral, 20% MS; G2=grão de soja moído em peneira de 2 mm, 20% MS; e G4=grão de soja moído em peneira de 4 mm, 20% MS. ³ 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-100000UI, vitamina D-40000UI, vitamina E-600UI.

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

Ingredientes ¹	Rações experimentais ²			
	C	GI	G2	G4
Milho moído	27,17	18,60	18,60	18,60
Farelo de soja	18,83	7,49	7,49	7,49
Grão de soja integral	-	20,01	20,01	20,01
Uréia pecuária	0,52	-	-	-
Sulfato de amônia	0,10	-	-	-
Bicarbonato de sódio	0,80	0,80	0,80	0,80
Óxido de magnésio	0,09	0,09	0,09	0,09
Mistura mineral ³	1,98	1,98	1,98	1,98
Calcáreo	0,14	0,14	0,14	0,14
Sal comum	0,24	0,24	0,24	0,24
Silagem de milho	49,87	49,35	49,35	49,35

¹ % matéria seca; ² C=controle; GI=grão de soja integral, 20% MS; G2=grão de soja moído em peneira de 2 mm, 20% MS; e G4=grão de soja moído em peneira de 4 mm, 20% MS. ³ 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-100000UI, vitamina D-40000UI, vitamina E-600UI.

Tabela 3 – Composição químico bromatológico dos ingredientes das dietas experimentais

Itens	SM ⁶	FS ⁷	Milho ⁸	GS ⁹
MS ¹	36,34	87,89	88,03	91,31
MO ²	92,38	81,01	85,26	85,89
MM ²	5,11	6,88	2,77	5,42
PB ²	7,02	52,56	10,61	36,69
NIDN ³	31,81	18,83	12,24	17,46
NIDA ³	24,28	3,97	13,49	4,07
EE ²	2,45	2,31	4,50	20,31
CT ²	85,42	38,25	82,12	37,58
FDN ²	53,11	15,20	14,90	26,72
FDNcp ²	49,47	6,52	13,42	20,96
CNF ²	32,31	23,05	67,22	24,81
FDA ²	37,32	15,84	6,78	36,44
FDAi ²	13,91	0,77	1,04	3,28
LIG ²	6,98	1,19	1,76	3,28
NDT ⁴	67,00	80,15	83,35	101,85
EL _L ⁴ (Mcal/kg)	1,52	1,84	1,92	2,38
EB ⁵ (cal/g/MS)	4001,62	4113,5	3874,75	5178,71

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 químico bromatológico dos ingredientes, concentrados e da silagem das dietas experimentais

Composição química	Concentrados experimentais ⁵				Silagem de Milho
	C	GI	G2	G4	
MS ¹	89,00	90,20	90,20	90,20	36,34
MO ²	88,62	89,56	89,56	89,56	92,38
PB ²	27,87	27,33	27,33	27,33	7,02
NIDN ³	11,29	12,56	12,37	13,34	31,81
NIDA ³	8,41	7,34	7,34	7,34	24,28
EE ²	2,52	10,39	10,39	10,39	2,45
CT ²	58,23	65,33	65,33	65,33	85,42
FDN ²	14,61	19,06	19,06	19,06	53,11
FDNcp ²	10,17	9,15	9,15	9,15	49,47
CNF ²	43,62	32,78	32,78	32,78	32,31
FDA ²	11,00	10,76	10,76	10,76	37,32
LIG ²	1,60	2,42	2,42	2,42	6,98
MM ²	11,38	10,44	10,44	10,44	5,11
NDT ⁴	72,10	79,76	80,08	80,06	67,00
EL _L ⁴ (Mcal/kg)	1,73	1,98	1,98	1,98	1,52

¹ % matéria natural. ² % matéria seca. ³ % nitrogênio total. ⁴ Estimado pelas equações do NRC (2001). ⁵ C=controle; GI=grão de soja integral, 20% MS; G2=grão de soja moído em peneira de 2 mm, 20% MS; e G4=grão de soja moído em peneira de 4 mm, 20% MS.

Tabela 5 – Composição químico bromatológico dos concentrados das dietas experimentais.

Composição química	Rações experimentais ⁵			
	C	GI	G2	G4
MS ¹	62,67	63,27	63,27	63,27
MO ²	91,51	91,98	91,98	91,98
PB ²	17,45	17,18	17,18	17,18
NIDN ³	21,55	22,18	22,09	22,57
NIDA ³	16,34	15,81	15,81	15,81
EE ²	2,49	6,42	6,42	6,42
CT ²	71,82	75,37	75,37	75,37
FDN ²	33,86	36,08	36,08	36,08
FDNcp ²	29,94	29,31	29,31	29,41
CNF ²	37,96	32,54	32,54	32,54
FDA ²	24,16	24,04	24,04	24,04
LIG ²	4,29	4,70	4,70	4,70
MM ²	8,24	7,77	7,77	7,77
NDT ⁴	69,55	73,38	73,54	73,53
EL _L ⁴ (Mcal/kg)	1,62	1,75	1,75	1,75

¹ % matéria natural. ² % matéria seca. ³ % nitrogênio total. ⁴ Estimado pelas equações do NRC (2001). ⁵ C=controle; GI=grão de soja integral, 20% MS; G2=grão de soja moído em peneira de 2 mm, 20% MS; e G4=grão de soja moído em peneira de 4 mm, 20% MS.

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 arroçados de acordo com o consumo de matéria no dia anterior, de forma a ser mantido porcentual de sobras das dietas, diariamente, entre 5 e 10 % do fornecido para haver limitação de consumo. Em cada período experimental foram coletadas amostras de silagem, 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, O'Connor e Van Soest (1992), em que: $CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$. Os teores de carboidratos não-fibrosos (CNF) foram estimados segundo Hall (1998) onde: $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB_{uréia} + \%uréia) + \%EE + \%MM + \%FDN]$. 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 a 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). Para a obtenção do FDAi as amostras de silagem, sobras e fezes foram pré-secas em estufa com ventilação forçada ($60^{\circ}\text{C}/72\text{horas}$), 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 ($60^{\circ}/72\text{ horas}$).

Após este período, os sacos foram submetidos à secagem em estufa não ventilada ($105^{\circ}/45\text{ minutos}$), 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 Balanço de Energia e de Nitrogênio

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 Harvatin 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: $EM \text{ (Mcal/kg)} = [1,01 * \{(\%CNF/100) * 4,2 + (\%FDN/100) * 4,2 + (\%PB/100) * 5,6 + (\%AG/100) * 9,4 - 0,3\} - 0,45] + 0,0046 * (EE - 3,0)$.

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

Os valores de energia líquida de produção (EL_p) foram calculados segundo a fórmula: $EL_p \text{ (Mcal/dia)} = \text{produção de leite (kg)} \times (0,0929 \times G\% + 0,0563 \times PV\% + 0,0395 \times \text{lactose\%})$ 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 = $EL \text{ manutenção} = EL \text{ (consumo)} - EL(\text{ganho PV}) - EL(\text{leite})$; Eficiência lactação = $EL \text{ produção de leite} + EL \text{ ganho de PV} / \text{Consumo de ED}$.

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 16º 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 0,036N 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 4900 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 foi determinado 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.

5.6 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 caixa térmica e encaminhadas ao Laboratório de Bromatologia da FMVZ-USP.

No laboratório as amostras foram centrifugadas a 2000 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 (AGCC). 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-NH_3).

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 Gás Chromatograph, Marca Finnigan) equipado com coluna de vidro de 02 metros de comprimento x 1/4", empacotada com 80/120 Carbowax 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. A temperatura utilizada do vaporizador foi de 220°C, do detector de ionização de chamas de 250°C e da coluna de separação de 195°C por 03 minutos, aumentando 10 °C/minuto até 200 °C.

Soluções padrões 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 01 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 Normal 1 mL de tungstato de sódio a 10%, e posteriormente as amostras foram centrifugadas a 1200 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 5mL 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.

5.7 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 desproteinizado. Alíquotas de 50 mL de urina (amostra *spot*) foram obtidas de todas as vacas no 19º 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, Orskov e Palhetas (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 E MATÍN-ORÚE, 2001).

Foram avaliadas também as purinas absorvidas, considerando-se a excreção endógena de $0,512 * pv^{0,75}$ e a recuperação de 0,70 encontradas por González-Ronquillo, Balcells e Guada, (2003). A síntese ruminal de compostos nitrogenados (nmic, gn/dia) foi calculada com base nas purinas absorvidas (pabs, mmol/dia), utilizando-se a equação (CHEN; GOMES, 1992): $nmic = (70 * pabs) / (0,83 * 0,134 * 1.000)$, em que 70 é o conteúdo de n nas purinas (mgn/mol); 0,134, a relação n purina: n total nas bactérias (VALADARES FILHO; MAGALHÃES; ROCHA JÚNIOR, 2006); e 0,83, a digestibilidade intestinal das purinas microbianas.

5.8 Produção e Composição do Leite

As vacas foram ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia, as 6:30 e as 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 $PLC = (0,432 + 0,1625 * \text{teor de gordura do leite}) * \text{kg de leite}$.

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.

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).

5.9 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 inicialmente, as amostras foram centrifugadas a $17.800 \times g$ por 30 minutos a 4 °C, e próximo de $19.300 \times g$ 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 (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 uma solução de NaCl a 1,5%.

Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (GC Shimadzu 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. O 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 C18 *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.

5.10 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).

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®).

5.11 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 analisados por contrastes ortogonais, sendo: contraste C1 = controle vs grão de soja; C2 = grão de soja integral vs grão de soja moído; C3 = grão de soja moído 2mm vs moído 4mm. Foi adotando nível de significância de 5%.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Consumo e Digestibilidade Aparente Total

Os resultados referentes ao consumo diário de nutrientes, e a digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes de acordo com as rações experimentais podem ser observados na (Tabela 7). Os animais que receberam as rações contendo grão de soja apresentaram menor ($P<0,05$) consumo de matéria seca, matéria orgânica e fibra em detergente neutro, bem como o consumo de matéria seca e FDN em porcentagem do peso vivo, em relação a dieta controle. Freitas Júnior et al. (2010a) observaram que os animais submetidos às rações contendo fontes de gordura apresentam menor consumo de matéria seca em relação à ração controle, e foi observado redução no consumo de matéria orgânica, proteína bruta, carboidratos totais, fibra em detergente neutro, carboidratos não fibrosos e nutrientes digestíveis totais para as rações experimentais com fontes adicionais de gordura em relação à ração controle. Como esperado, o consumo de extrato etéreo foi maior para as rações com fontes adicionais de gordura.

Não houve diferença ($P>0,05$) no consumo de proteína bruta, carboidrato não fibroso, carboidrato total e NDT, para todos os contrastes avaliados. Em relação ao consumo de extrato etéreo e energia líquida de lactação foi observado um maior ($P<0,05$) consumo para as rações contendo grão de soja, este fato pode ser justificado pela maior concentração de extrato etéreo nas rações que continham o grão de soja, seja o grão de soja integral ou moído. Allen (2000) afirmou que os mecanismos pelo qual a suplementação de gordura na dieta afeta o consumo de matéria seca ainda não estão 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.

Rabello, Valadares Filho e Coelho da Silva (1996) em estudo com quatro vacas 7/8 holandês-zebu em lactação, com fístula no rúmen e abomaso, testaram quatro níveis de inclusão de grão de soja moído. Não verificaram diferença no consumo deste nutriente, exceto o consumo de EE, o que aumentou linearmente com a inclusão do mesmo no concentrado.

Resultados encontrados por Mohamed, Satter e Grammer (1988), concluíram que o grão de soja cru ou tostado até 20% da MS dietética diminuiu o consumo da matéria seca da dieta.

Quando se avalia respostas de consumo com a suplementação com diferentes fontes de gordura, alguns estudos observaram a 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).

O consumo de matéria seca é muitas vezes influenciado pela suplementação da dieta com fontes lipídicas tanto em relação à quantidade de gordura utilizada como a fonte escolhida. Os efeitos são mais evidentes quando a fonte utilizada é rica em ácidos graxos insaturados, o que segundo alguns autores interfere com o metabolismo ruminal (DELUCA; JENKINS, 2000), principalmente na digestão da fibra (COPPOCK; WILKS, 1991) podendo ocasionar uma redução na taxa de passagem (ALLEN, 2000) e com isso uma queda no consumo.

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 volumoso:concentrado 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.

Duarte et al. (2005), não observaram alteração no consumo da matéria seca e fibra, de vacas de média de 21Kg/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 volumoso:concentrado de 60:40, sendo que os animais consumiram cerca de 2,53 Kg de grão de soja dia.

Tabela 7 – Consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais ¹				Média	EPM	Contrastes ⁵		
	C ¹	GI ²	G2 ³	G4 ⁴			C1	C2	C3
Consumo kg/dia									
Matéria seca	23,72	22,99	22,55	23,56	23,21	0,45	0,002	0,178	0,987
Matéria orgânica	21,74	21,18	20,75	20,79	21,12	0,42	0,005	0,167	0,913
Proteína bruta	4,13	3,94	3,90	3,87	3,96	0,08	0,431	0,380	0,695
Extrato etéreo	0,69	1,51	1,42	1,57	1,30	0,06	<0,001	0,893	0,961
Fibra detergente neutro	7,92	7,59	7,34	7,39	7,56	0,16	<0,001	0,089	0,759
Carboidrato não fibrosos	9,45	7,94	8,55	8,17	8,53	0,36	0,001	0,243	0,368
Carboidratos totais	17,16	17,00	16,70	16,95	16,95	0,40	0,449	0,659	0,583
NDT ⁶	16,04	16,47	16,16	16,25	16,23	0,35	0,273	0,254	0,788
Mcal/dia									
Energia líquida de lactação	36,54	39,28	38,26	38,28	38,09	0,81	0,003	0,154	0,973
Coeficiente de Digestibilidade %									
Matéria seca	72,11	71,07	70,71	71,86	71,44	0,57	0,339	0,826	0,315
Matéria orgânica	74,30	73,32	72,56	73,78	73,49	0,54	0,185	0,859	0,220
Proteína bruta	74,12	69,23	72,99	75,12	72,87	0,69	0,160	0,004	0,356
Extrato etéreo	76,84	81,25	87,50	87,92	83,38	0,93	0,005	0,009	0,876
Fibra detergente neutro	61,13	59,13	57,33	59,57	51,26	1,22	0,065	0,617	0,164
Carboidrato não fibrosos	88,26	88,01	89,28	89,89	88,86	0,61	0,606	0,428	0,597
Carboidratos totais	74,56	75,51	73,23	74,30	74,40	0,97	0,897	0,093	0,237
NDTobs ⁷	64,71	68,08	68,23	69,22	67,56	0,55	0,006	0,485	0,356
Consumo % PV									
Matéria seca	4,28	4,11	4,03	4,05	4,12	0,06	<0,001	0,158	0,678
Fibra detergente neutro	1,43	1,36	1,32	1,33	1,36	0,02	<0,001	0,112	0,610

¹ Controle; ² Grão de soja integral, 20% MS; ³ Grão de soja moído em peneira de 2 mm, 20% MS ⁴ Grão de soja moído em peneira de 4 mm, 20% MS, C1 = controle vs grão de soja (GI+G2+G4); C2 = grão integral vs grão de soja moído (G2+G4); C3 = grão de soja moído em peneira de 2 mm vs grão de soja moído em peneira de 4 mm.

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 e não foi observado efeito entre as dietas utilizadas no consumo de matéria seca e de proteína bruta.

Os resultados de digestibilidade aparente total da matéria seca pode ser observada na (Tabela 7). Não houve diferença ($P>0,05$) para o coeficiente de digestibilidade aparente total da matéria seca, matéria orgânica, FDN, carboidratos não fibrosos e carboidratos totais para todos os contrastes encontrados.

Em relação ao coeficiente de digestibilidade da proteína bruta foi observado maior ($P<0,05$) coeficiente de digestibilidade para as rações que continham o grão de soja moído em relação ao grão de soja integral. Esse resultado ocorreu provavelmente devido a maior exposição da matriz protéica do grão de soja quando processado, no ambiente ruminal e intestinal.

Dados da literatura mostram que a interação entre a dieta basal e suplementação de lipídeos 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.

Quando se avaliou o coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo foi observado maior ($P<0,05$) coeficiente de digestibilidade para as rações contendo grão de soja em relação à ração controle, também se obteve melhor digestibilidade ($P<0,05$) para as rações contendo grão de soja processado em relação ao grão de soja integral. Os resultados obtidos para coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo são reflexo da maior proporção de lipídeos nas rações que continham o grão de soja e também pela maior exposição da matriz do grão de soja quando processado em peneiras de 2 ou 4mm.

Quando se avaliou os nutrientes digestíveis totais observados, foi observado maior ($P<0,05$) valor para as rações que continham o grão de soja, devido maior teor de extrato etéreo nessas rações, visto que os lipídeos têm 2,25 vezes mais energia que as proteína e os carboidratos.

Segundo Dhiman, Nan e Ure (2005) os grãos ricos em óleos podem oferecer alguma proteção contra a completa biohidrogenação ruminal quando fornecidos intactos ao animal. Porém, esta proteção parece ser limitada e os resultados práticos variáveis.

De acordo com Coppock e Wilks (1991) e Palmquist (1991) o uso do grão de soja proporciona menor efeito da gordura sobre a digestibilidade de nutrientes por proporcionar lenta liberação de lipídeos no rúmen, não superando a capacidade de hidrogenação dos microrganismos ruminais impedindo uma possível perda de digestibilidade, de fibra pelo efeito negativo que gorduras insaturadas prontamente disponíveis no rúmen podem causar nas bactérias fibrolíticas.

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 oleaginosa 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.

Analizando 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.

6.2 Fermentação Ruminal

Não houve diferença ($P>0,05$) das rações experimentais sobre os valores de pH ruminal e as concentrações de $N-NH_3$, para todos os contrastes avaliados (Tabela 8). Estes resultados mostram que a inclusão de altos níveis de lipídeos em rações de vacas no terço médio de lactação não é capaz de prejudicar a fermentação ruminal.

Vasconcelos et al. (2010) analisaram a variação do pH ruminal e da amônia ruminal de vacas da raça Holandesa em lactação, recebendo rações com grão de soja processado de diferentes formas e encontram resultados semelhante a este trabalho para pH ruminal e nitrogênio amoniacal. 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.

Tabela 8 – Parâmetros de fermentação ruminal em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais ¹				Média	EPM	Contrastes ⁵		
	C ¹	GI ²	G2 ³	G4 ⁴			C1	C2	C3
pH	6,58	6,60	6,56	6,65	6,60	0,03	0,776	0,878	0,293
N-NH ₃	21,16	18,05	19,83	19,47	19,63	0,73	0,228	0,365	0,860
mg/dl									
AGCC (%)									
Acético	65,10	66,15	62,48	63,52	64,32	0,60	0,201	0,001	0,295
Propiônico	23,74	22,85	27,38	26,17	25,04	0,77	0,096	0,001	0,329
Butírico	11,14	10,98	10,12	10,29	12,60	0,19	0,046	0,029	0,674
AGCC (mmol/l)									
Acético	61,62	56,18	57,07	54,82	57,42	1,41	0,072	0,942	0,540
Propiônico	22,40	20,06	25,26	22,41	22,53	0,94	0,903	0,018	0,111
Butírico	10,55	9,34	9,22	8,90	9,50	0,29	0,037	0,672	0,678
C2/C3 ⁷	2,87	2,99	2,41	2,50	2,69	0,08	0,064	0,001	0,544
AGCC ⁶	94,58	85,59	91,56	86,13	89,46	2,14	0,137	0,492	0,324

¹ Controle; ² Grão de soja integral, 20% MS; ³ Grão de soja moído em peneira de 2 mm, 20% MS ⁴ Grão de soja moído em peneira de 4 mm, 20% MS, ⁵C1 = controle vs com grão de soja (GI+G2+G4); C2 = grão integral vs grão de soja moído (G2+G4); C3 = grão de soja moído em peneira de 2 mm vs grão de soja moído em peneira de 4 mm, ⁶Ácidos graxos de cadeia curta ⁷Acetato/propionato.

Em relação à proporção molar e concentração (mmol/l) dos ácidos graxos de cadeia curta, foi observado menor ($P<0,05$) proporção molar de acetato (%) para as rações que continham o grão de soja em sua forma processada em relação ao grão de soja integral, todavia o mesmo resultado não foi observado para a concentração de acetato (mmol).

Quando se avaliou as concentrações de propionato (% e mmol) e a relação acetato:propionato, foi observado maior ($P<0,05$) concentração para as rações com o grão de soja moído em relação ao grão integral. No entanto, não foi observado diferenças ($P>0,05$) quando foi comparado a ração controle com as rações contendo o grão de soja. Desta forma pode-se sugerir que a produção de propionato não foi influenciada pela adição do grão de soja neste nível de inclusão nas rações. A maior produção de propionato observado nas rações com o grão de soja moído pode estar relacionada com o tempo e a forma de liberação da gordura no rúmen.

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); Palmquist e Conrad (1978).

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, 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).

Foi observado maior ($P<0,05$) concentração de butirato (% e mmol) para a ração controle em relação às rações com inclusão de grão de soja. Este resultado é justificado pelo comportamento semelhante do consumo de matéria seca (Tabela 7) que os animais apresentaram neste mesmo estudo. Houve também maior ($P<0,05$) concentração de butirato (%) quando se comparou a ração contendo grão de soja integral vs as rações com grão de soja moído. Este resultado justifica-se devido à forma e o tempo da liberação da gordura no rúmen que de certa maneira pode ter influenciado a microflora ruminal e o consumo.

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.

6.3 Síntese de Proteína Microbiana

Não houve diferença ($P>0,05$) na excreção diária total de urina, das excreções diárias de alantoína, e ácido úrico, de alantoína no leite, de derivados de purinas totais, da porcentagem de alantoína, das purinas absorvidas, do nitrogênio microbiano, e da proteína bruta microbiana entre as rações experimentais (Tabela 9).

Estes resultados indicam que a utilização do grão de soja cru integral ou moído não influenciou na síntese de proteína microbiana.

A suplementação de fontes de gordura como o grão de soja, integral ou moído, sementes de oleaginosas com elevado teor de extrato etéreo, poderiam reduzir a quantidade de carboidratos rapidamente fermentáveis, podendo diminuir a quantidade de substrato disponível para a síntese de proteína microbiana.

Schingoethe (1998) cita o potencial efeito inibidor da utilização do grão de soja, na presença de fatores anti-nutricionais em sua composição, em reduzir a eficiência de utilização do nitrogênio.

Entretanto, alguns estudos encontrados na literatura não demonstram tais resultados. Freitas Júnior (2010a), utilizando 16% de inclusão de grão de soja cru na matéria seca em rações de vacas Holandesas em lactação, não observou efeito das rações experimentais na SPM. Da mesma forma, Vasconcelos et al. (2010) avaliaram a SPM em vacas alimentadas com grão de soja integral, encontraram valores semelhantes ao encontrado neste experimento, sem haver qualquer alteração em relação à ração controle.

Excesso de lipídeos na dieta provoca, dentre outros efeitos, a redução de síntese de proteína microbiana, seja pelos efeitos tóxicos sobre os microrganismos e suas enzimas, além dos efeitos citotóxicos diretos, alterando a fluidez da membrana celular, com conseqüente redução no crescimento microbiano (JENKINS, 1993).

Tabela 9 – Síntese de proteína microbiana de acordo com as rações experimentais

Variável ⁶	Rações experimentais				Média	EPM	Contrastes ⁵		
	C ¹	GI ²	G2 ³	G4 ⁴			C1	C2	C3
	<i>Mmo/l</i>								
Al-leite	0,02	0,04	0,04	0,03	0,033	0,003	0,057	0,923	0,617
Al-urina	10,03	9,69	12,55	10,57	10,71	0,63	0,553	0,254	0,293
Ac-úrico	0,90	0,88	1,03	0,86	0,92	0,05	0,904	0,916	0,078
	<i>Mmol/dia</i>								
Al- leite	0,66	1,15	1,10	1,03	0,99	0,10	0,076	0,731	0,811
Al-urina	254,69	243,19	259,80	253,21	252,72	4,56	0,795	0,221	0,596
Ac-úrico	23,78	23,09	22,26	18,99	22,03	1,18	0,440	0,443	0,377
Pt	279,15	267,43	283,17	273,25	275,75	4,40	0,643	0,303	0,410
Al% PT	91,34	91,29	91,98	93,05	91,92	0,44	0,487	0,293	0,425
Pabs	366,80	344,03	373,42	351,94	359,05	8,40	0,581	0,351	0,352
	<i>G/dia</i>								
N mic	278,86	296,52	295,02	291,5	290,47	5,29	0,581	0,351	0,352
PB mic	1742,88	1853,25	1843,88	1821,88	1815,47	3,09	0,581	0,351	0,352
	<i>g PB mic/kg NDT</i>								
Eficiência	108,67	112,52	114,10	112,11	111,85	2,89	0,787	0,432	0,213
	<i>L/dia</i>								
Urina	27,00	27,00	23,39	26,25	25,91	0,95	0,529	0,375	0,314

¹ Controle; ² Grão de soja integral, 20% MS; ³ Grão de soja moído em peneira de 2 mm, 20% MS ⁴ Grão de soja moído em peneira de 4 mm, 20% MS, ⁵ C1 = controle vs com grão de soja (GI+G2+G4); C2 = grão integral vs grão de soja moído (G2+G4); C3 = grão de soja moído em peneira de 2 mm vs grão de soja moído em peneira de 4 mm, ⁶ Alantoína 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,).

Não houve diferença (P>0,05) na eficiência da síntese de proteína microbiana. De acordo com a revisão feita por Santos et al. (1998), a proteína microbiana é a melhor fonte de

aminoácidos disponíveis para a síntese e produção de leite, os resultados mostram que o grão de soja integral ou moído é uma boa fonte, pois não alterou a produção microbiana.

6.4 Produção e Composição do Leite

Não houve efeito ($P>0,05$) das rações experimentais sobre a produção de leite, teor e produção de gordura, proteína e lactose. (Tabela 10). Estes resultados indicam que a inclusão de 20% de grão de soja integral ou moído não influenciou o aporte de nutrientes para a glândula mamária, pois foi obtido similar desempenho produtivo. No entanto a produção de leite corrigida foi diferente entre as dietas C *versus* GS.

Também, pela avaliação dos resultados da dietas contendo grão de soja integral *versus* moído não foi observado melhoria do desempenho produtivo quando o grão de soja foi utilizado na forma integral ou moído. Além disso, quando avaliado o desempenho das vacas submetidas ao grão de soja moído na peneira de 2mm *vs* de 4mm, também não houve diferença nos resultados.

Schauff et al.(1992) avaliaram a inclusão de 10 % de grão de soja cru em rações de 4 vacas da raça Holandesa canuladas no rúmen com média de produção de leite de 30,0kg/vaca/dia recebendo como volumoso a silagem de milho e feno de alfafa. Estes autores não observaram efeito da inclusão do grão de soja sobre a produção de leite, produção de leite corrigida, teor de gordura e produção de gordura. Duarte et al. (2005) avaliaram a inclusão de 14% de grão de soja cru na matéria seca total de 12 vacas da raça Holandesa com média de 20kg/vaca/dia sobre a produção e composição do leite. Estes autores também não verificaram diferença entre a ração controle e a ração com grão de soja sobre a produção e composição do leite.

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.

Em relação as concentrações de uréia e NUL no leite foi observado efeito ($P < 0,05$) quando se comparou a ração com o grão de soja inteiro com as rações com o grão de soja moído, obtendo-se maiores concentrações para rações com o grão moído, esses resultados estão de acordo com o coeficiente de digestibilidade da proteína bruta (Tabela 9), com a excreção de nitrogênio na fezes (g/dia) (Tabela 13) e com as concentrações plasmáticas de uréia e NUS (Tabela 12).

Tabela 10 – Desempenho produtivo em função das rações experimentais

Variável	Rações experimentais				Média	EPM	Contrastes ⁵		
	C ¹	GI ²	G2 ³	G4 ⁴			C1	C2	C3
Produção kg/dia									
Leite	31,80	30,17	31,49	30,81	31,07	0,54	0,065	0,076	0,279
3,5% PLC	28,3	26,8	27,4	27,1	27,4	0,59	0,039	0,590	0,822
Gordura	0,90	0,84	0,84	0,85	0,86	0,03	0,095	0,951	0,855
Proteína	0,96	0,90	0,95	0,92	0,93	0,01	0,156	0,206	0,460
Lactose	1,42	1,31	1,33	1,31	1,34	0,04	0,289	0,563	0,329
Composição do leite %									
Gordura	2,89	2,85	2,67	2,75	2,79	0,10	0,252	0,246	0,564
Proteína	3,08	3,05	3,02	3,05	3,05	0,02	0,364	0,722	0,685
Lactose	4,46	4,35	4,23	4,34	4,35	0,03	0,897	0,564	0,489
Composição do leite mg/Dl									
Uréia	38,93	35,87	42,29	42,46	40,19	0,64	0,673	0,042	0,960
NUL	18,18	16,75	19,75	19,83	18,77	0,64	0,673	0,042	0,960
Kg									
Peso corporal	543,5	548,1	536,0	531,8	539,8	8,68	0,324	0,452	0,567
ECC	2,73	2,75	2,73	2,73	2,73	0,03	0,234	0,454	0,345

¹ Controle; ² Grão de soja integral, 20% MS; ³ Grão de soja moído em peneira de 2 mm, 20% MS ⁴ Grão de soja moído em peneira de 4 mm, 20% MS, C1 = controle vs com grão de soja (GI+G2+G4); C2 = grão integral vs grão de soja moído (G2+G4); C3 = grão de soja moído em peneira de 2 mm vs grão de soja moído em peneira de 4 mm.

Segundo Schingoethe (1998) e McDonald, Edwards e Greenhalgh (2002), não está claro o efeito deletério sobre o aproveitamento de nutrientes da utilização do grão de soja cru em ruminantes, especialmente para vacas em lactação. Porém, estes autores relataram que existe limite teórico de fornecimento de 2,3 kg/vaca/dia de grão de soja cru. Esse limite foi baseado na presença de fatores anti-nutricionais, que poderiam reduzir o aproveitamento de nutrientes e o desempenho produtivo em rações com grão de soja cru. No presente estudo, foi utilizado 20% de grão de soja cru na matéria seca das rações, na forma integral ou moído, que resultou no fornecimento de aproximadamente 5,2 kg/vaca/dia de grão de soja, sem, no entanto, apresentar alteração no desempenho produtivo dos animais.

O peso corporal e o escore de condição corporal, não foram influenciados ($P>0,05$) pelas rações experimentais (Tabela 10). Isso confirma que as rações atenderam as exigências nutricionais dos animais durante o período experimental.

6.5 Perfil de Ácidos Graxos do Leite

De forma geral, não foi observado efeito ($P>0,05$) para as concentrações totais de ácidos graxos $<C16$, como os ácidos C6, C8, C10, C12, C14, C15 e C16, entre as dietas experimentais. A síntese dos ácidos graxos de cadeia curta são provenientes principalmente das células epiteliais da glândula mamária, a partir do acetato e do β -hidroxibutirato, que são originados no rúmen, os valores encontrados neste estudo sugerem que a inclusão de grão de soja integral e moído e o conseqüente aumento dos teores de extrato etéreo das dietas (Tabela 11), não interferiu na síntese de ácidos graxos de cadeia curta na gordura do leite.

Foi observado efeito ($P<0,05$) para as concentrações totais do C18:0 saturados e insaturados, sendo observado maiores concentrações para as rações contendo grão de soja independente da forma de processamento, confirmando maior participação dos AGs pré formados de origem dietética para a composição da gordura do leite. A inclusão de lipídeos em dietas de bovinos leiteiros tendem a aumentar o teor de ácido esteárico (C18:0), resultados semelhantes foram encontrados nos estudos de Schauff Clark (1992) e Pinto (1997).

De forma semelhante, foi observado efeito $P(<0,05)$ para concentração total de ácidos graxos $>C16$, sendo observado maiores concentrações para as rações contendo grão de soja integral e moído, demonstrando assim o possível poder de proteção da gordura presente no grão de soja independente da forma física.

Os resultados obtidos demonstraram que a concentração dos isômeros C18:1 trans-11 variaram entre as dietas experimentais, observando maiores concentrações para as dietas com grão de soja moído, em ambas as peneiras em relação as outras dietas experimentais. Em relação as concentrações de C18:1 trans-11, foi maior ($P<0,05$) para as rações com grão moído em relação à ração com grão de soja integral. No entanto quando foi avaliado o isômero C18:2 cis apenas foi encontrado diferença ($P<0,05$) quando se comparou a dieta controle às com grão de soja independente da forma de processamento. Também foi observado efeito ($P<0,05$) do C18:1 cis-9, sendo observado maiores concentrações para as dietas contendo grão de soja integral e moído.

Em relação as concentrações de C18:2 trans-10, cis-12 foi observado efeito ($P<0,05$) para todos os contrastes avaliados, porém foram observados concentrações muito pequenas para todas as rações experimentais.

Foi observado efeito ($P<0,05$) para concentrações da enzima $\Delta 9$ dessaturase, sendo observado maiores concentrações para as dietas contendo grão de soja integral e moído.

Estes resultados demonstraram que houve aumento da extensão de biohidrogenação de ácidos graxos com a inclusão de grão de soja cru e moído nas dietas, diferentemente do que ocorre com o grão de soja servido integral. Provavelmente este efeito ocorreu devido a moagem do grão de soja, que perderam sua proteção natural e assim sofreram maiores efeitos da biohidrogenação ruminal, alterando e aumentando a quantidade de determinados ácidos graxos no intestino delgado, para absorção, e aumentando a síntese na gordura do leite.

Tabela 11 – Perfil de ácidos graxos de acordo com as rações experimentais

Variável ⁶	Rações Experimentais ¹				Média	EPM	Contrates ⁵		
	C ¹	GI ²	G2 ³	G4 ⁴			C1	C2	C3
C4	1,21	1,48	1,29	1,37	1,34	0,33	0,039	0,075	0,404
C6	1,32	1,52	1,32	1,37	1,39	0,36	0,351	0,071	0,649
C8	0,97	1,03	0,91	0,92	0,96	0,27	0,932	0,098	0,875
C10	2,49	2,47	2,20	2,21	2,36	0,73	0,311	0,212	0,961
C12	2,98	2,83	2,56	2,55	2,75	0,79	0,159	0,274	0,995
C14	10,69	10,59	9,67	9,85	10,20	2,32	0,375	0,291	0,840
C15	1,09	0,96	0,95	0,92	0,99	0,27	0,091	0,763	0,774
C16	28,29	29,13	27,32	28,67	28,20	5,34	0,963	0,538	0,524
C16:1cis	1,15	1,10	1,04	1,03	1,09	0,32	0,326	0,563	0,956
C17	0,41	0,36	0,38	0,35	0,38	0,10	0,111	0,919	0,456
C18	12,81	17,40	17,43	18,20	16,41	4,92	<0,001	0,617	0,563
C18:2-cis	3,29	4,81	4,86	5,56	4,63	1,72	<0,001	0,396	0,200
C18:1 trans 11	0,73	0,59	0,94	1,22	0,87	1,28	0,329	0,025	0,248
C18:1 cis-9	22,39	27,41	26,69	27,47	25,99	5,13	0,003	0,837	0,674
C18:3	0,19	0,32	0,33	0,39	0,30	0,14	0,005	0,358	0,192
C20	0,09	0,11	0,13	0,11	0,11	0,04	0,021	0,424	0,136
C18:2-c-9, t-11	0,35	0,28	0,32	0,33	0,33	0,11	0,251	0,173	0,759
C18:2 trans-10cis-12	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,01	0,01	<0,001	<0,001	<0,001
Total									
Saturados	62,65	68,19	64,41	66,79	65,81	12,82	0,312	0,513	0,603
Insaturados	11,74	13,30	13,52	14,58	13,28	3,07	0,004	0,298	0,192
Rel. Ins/sat	0,18	0,20	0,22	0,22	0,21	0,08	0,004	0,137	0,771
Total C18									
Sat. C18:0	12,81	17,40	17,43	18,20	16,41	4,92	<0,001	0,617	0,663
Insat. C18:0	8,82	10,39	10,73	11,79	10,43	2,83	<0,001	0,190	0,172
Ins/sat C18:0	0,72	0,68	0,72	0,73	0,72	0,45	0,796	0,348	0,883
<C16	22,35	22,61	20,36	20,67	21,50	4,99	0,468	0,214	0,869
>C16	22,84	28,90	29,41	31,18	28,08	5,75	<0,001	0,393	0,350
C16 total	29,43	30,23	28,36	29,71	29,44	5,75	0,990	0,530	0,541
$\Delta 9$ Dessaturase ⁶	0,41	0,46	0,47	0,47	0,45	0,08	<0,001	0,426	0,823

¹ Controle; ² Grão de soja integral, 20% MS; ³ Grão de soja moído em peneira de 2 mm, 20% MS; ⁴ Grão de soja moído em peneira de 4 mm, 20% MS. ⁵ C1 = controle vs com grão de soja (GI+G2+G4); C2 = grão integral vs grão de soja moído (G2+G4); C3 = grão de soja moído em peneira de 2 mm vs grão de soja moído em peneira de 4 mm; ⁶ Atividade de $\Delta 9$ Dessaturase.

6.6 Parâmetros Sangüíneos

As concentrações plasmáticas no soro de glicose no soro, proteínas totais, aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamil transferase (GGT) não foram influenciadas ($P>0,05$) pelas rações experimentais (Tabela 12).

A concentração de glicose plasmática pelas rações experimentais, os resultados observados foram semelhante aos estudos de Elliott et al. (1993) e Bremmer, Ruppert e Clark (1998), que verificaram variação na concentração 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.

Freitas Júnior et al. (2010b), não observaram diferenças nas concentrações plasmáticas de glicose no soro, de triglicerídeos, colesterol- VLDL, proteínas totais, albumina, AST, GGT e fosfatase alcalina (FA), das fontes de gordura adicionadas nas rações experimentais

As vacas que receberam as rações contendo grão de soja apresentaram maiores concentrações de colesterol total e colesterol - HDL ($P<0,05$) em relação a ração controle. Esses resultados estão de acordo com a proporção de lipídeos das rações contendo grão de soja e também com o consumo de extrato etéreo observado (Tabela 7), para as rações experimentais.

O aumento da concentração dos componentes do lipidograma no soro pode ser justificado devido o maior consumo de ácidos graxos nas rações, que proporcionou aumento das respectivas frações relativas ao metabolismo de lipídeos transportadas no sangue. Elliott et al. (1993), de forma semelhante, observaram aumento da concentração de colesterol total no sangue de vacas com cerca de 64 dias de lactação e suplementadas com diferentes fontes de gordura, com média de 247 mg/dl e 247 mg/dl, respectivamente, para os níveis de 2,5 e 5,0% de EE na dieta. De acordo com Schauff 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.

A concentração de glicose plasmática não foi influenciada pelas rações experimentais, sendo este resultado semelhante aos estudos de Elliott et al. (1993); Bremmer, Ruppert e Clark (1998) e Drackley et al. (1992), que verificaram variação na concentração 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, especialmente quando as vacas estão no meio e final de lactação, como as utilizadas no presente estudo.

Tabela 12 – Parâmetros sanguíneos de acordo com as rações experimentais

Variável	Tratamentos				Médias	EPM	Contrastes ⁵		
	C ¹	G1 ²	G2 ³	G3 ⁴			C1	C2	C3
	<i>mg/dL</i>								
Glicose	65,77	63,58	61,25	62,89	63,35	1,12	0,059	0,381	0,413
Colesterol	194,40	232,67	221,83	224,50	217,35	4,70	0,003	0,377	0,830
Colesterol - HDL	98,06	119,50	113,21	121,58	112,91	3,02	0,006	0,768	0,317
Uréia	40,04	34,58	38,08	41,70	38,58	1,18	0,466	0,048	0,258
NUS	18,71	16,15	17,80	19,48	18,03	0,55	0,465	0,043	0,253
	<i>g/dL</i>								
Proteína total	4,91	4,90	5,00	5,01	4,96	0,04	0,166	0,649	0,843
Albumina	2,08	1,99	2,16	2,09	2,08	0,02	0,138	0,050	0,547
	<i>UI/L</i>								
AST	65,00	62,83	69,58	65,75	65,79	2,21	0,786	0,246	0,423
GGT	6,59	6,32	6,25	6,64	6,42	0,30	0,790	0,856	0,638

¹Controle; ² grão de soja integral; ³grão de soja 2mm; ⁴grão de soja 4mm; ⁵C1=controle vs Grão de soja (C2+C3+C4); C2=grão de soja integral vs grão de soja processado; C3=grão de soja processado 2mm vs grão de soja processado 4mm.

Em relação as concentrações de uréia, NUS e albumina foi observado diferença ($P<0,05$) quando se comparou a ração contendo grão de soja integral às com grão de soja moído, apresentando esta maior concentração. Esses resultados estão de acordo com o coeficiente de digestibilidade da proteína bruta (Tabela 7) e com as concentrações de uréia e NUL.

Geralmente, valores elevados de NUS estão associados a dietas com valores elevados de proteína degradável no rúmen (PDR) e com a concomitante deficiência de carboidratos não fibrosos no rúmen, o que impossibilita uma melhor utilização do nitrogênio como fonte de crescimento microbiano. O conseqüente aumento na concentração de amônia no rúmen resultaria em aumento na concentração deste metabólito no sangue e subseqüente aumento na concentração de uréia sanguínea. No entanto, quantidades elevadas de proteína não degradável no rúmen (PNDR) gera a mesma condição, pois excessos de nitrogênio, tanto de origem ruminal como pós-ruminal, são eliminados do organismo através do mesmo processo de síntese hepática de uréia. Assim, o excesso de proteína, tanto na forma não degradável como degradável, aumentará o NUS (ROSELER et al.,1993).

6.7 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 13).

Em relação ao balanço de nitrogênio somente foi observado efeito ($P < 0,05$) quando se comparou a ração com grão de soja integral *vs* às com grão moído, onde a ração com grão de soja integral apresentou maior excreção nas fezes. Esses dados estão de acordo com o coeficiente de digestibilidade da proteína bruta (Tabela 7).

Não foi observado efeito ($P > 0,05$) das dietas experimentais para balanço de nitrogênio (g/dia e % nitrogênio total) e eficiência de utilização do N.

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 217,07g/dia, que apresenta valores superiores devido à fase de lactação e desempenho produtivo dos animais.

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 (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 (9,5% do nitrogênio total consumido).

Tabela 13 – Balanço de nitrogênio em função das rações experimentais

Variável	Rações experimentais ¹				Médias	EPM	Contrastes ⁵		
	C ¹	GI ²	G2 ³	G4 ⁴			C1	C2	C3
	Consumo (g/dia)								
Nitrogênio	662,96	629,11	618,13	617,12	631,82	12,95	0,001	0,456	0,789
	Excreção(g/dia)								
Fecal	173,25	193,96	169,22	154,84	172,81	5,77	0,944	0,001	0,163
Urinário	111,54	102,95	99,88	106,83	105,30	8,38	0,636	0,982	0,746
Leite	146,31	139,16	148,16	137,31	142,73	3,28	0,525	0,652	0,243
	Balanço(g/dia)								
Nitrogênio	226,68	189,98	200,87	209,65	206,79	9,06	0,164	0,341	0,802
	Excreção (% Nitrogênio Total)								
Fecal	25,82	30,78	27,31	24,97	27,22	0,67	0,126	0,011	0,121
Urinário	16,45	16,29	16,03	17,01	16,45	1,07	0,932	0,933	0,766
Leite	23,21	22,88	24,15	23,85	23,52	0,47	0,512	0,105	0,558
	Balanço (% Nitrogênio Total)								
Nitrogênio	34,50	29,97	32,35	34,15	32,74	1,21	0,425	0,294	0,616
	g nitrogênio leite / g nitrogênio consumido								
Eficiência	0,23	0,22	0,23	0,23	0,23	0,004	0,965	0,164	0,593

¹ Controle; ² Grão de soja integral, 20% MS; ³ Grão de soja moído em peneira de 2 mm, 20% MS ⁴ Grão de soja moído em peneira de 4 mm, 20% MS, C1 = controle vs com grão de soja (GI+G2+G4); C2 = grão integral vs grão de soja moído (G2+G4); C3 = grão de soja moído em peneira de 2 mm vs grão de soja moído em peneira de 4 mm.

O consumo de nitrogênio (g/dia) entre as rações experimentais acompanharam de forma coerente os resultados de consumo de matéria seca (Tabela 7), isso justifica a variação no consumo e excreção fecal de nitrogênio (g/dia), já que as rações utilizadas neste estudo foram isoprotéicas. No entanto, pode-se afirmar que o metabolismo protéico dos animais não foi alterado com as fontes de gordura.

6.8 Balanço de Energia

Quando foi analisado o consumo de energia bruta, se observou maior ($P < 0,05$) valor para a ração controle em relação às rações com grão de soja, esses resultados estão de acordo com o consumo de matéria seca (Tabela 7). No entanto, em relação ao consumo de energia líquida de lactação foi observado maior consumo para as rações com o grão de soja em relação ao controle. Esses dados estão de acordo com a produção de leite apresentada pelos animais, onde se analisando o mesmo contraste foi observado $P = 0,065$, quando se comparou as rações com grão de soja à controle.

Em relação a produção de energia somente foi observado efeito ($P < 0,05$) para energia líquida de ganho, onde foi observado maiores valores para as rações com grão de soja em relação à controle e para a ração contendo soja integral em relação às rações com grão de soja moída (Tabela 14).

Esse modelo de cálculo do BE foi escolhido por ser o mais utilizado para 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 mudanças nas exigências de energia líquida de manutenção com ganho de peso, pois há variações na composição corporal dos animais estudados (NRC, 2001).

Tabela 14 – Balanço de energia em função das rações experimentais

Variáveis	Rações experimentais				Médias	EPM	Contrastes ⁵		
	C ¹	GI ²	G2 ³	G4 ⁴			C1	C2	C3
<i>Consumo</i>									
EB (Mcal/dia) ⁶	94,63	93,20	90,85	91,55	92,56	1,88	0,043	0,159	0,660
ED (Mcal/dia) ⁷	60,97	59,40	58,89	55,96	58,81	1,39	0,167	0,367	0,250
EM (Mcal/dia) ¹³	50,61	49,30	48,88	46,45	48,81	1,15	0,167	0,135	0,250
EL _L (Mcal/dia) ⁸	36,54	39,28	38,26	38,28	38,09	0,81	0,003	0,154	0,973
<i>Produção</i>									
EL _L (Mcal/dia) ⁹	19,53	18,32	18,81	18,65	18,83	0,37	0,077	0,399	0,767
EL _G (Mcal/dia) ¹⁰	7,38	11,33	9,81	10,01	17,03	0,76	0,001	0,037	0,784
<i>Balanço de energia</i>									
EL _L (Mcal/dia)	9,63	9,62	9,63	9,62	9,62	0,07	0,667	0,809	0,530
<i>Eficiência energética</i>									
EL _P /CED ¹¹	0,44	0,49	0,48	0,52	0,48	0,01	0,007	0,812	0,113
EL _L /CED ¹²	0,32	0,31	0,32	0,34	0,33	0,02	0,845	0,199	0,225

¹ Controle; ² Grão de soja integral, 20% MS; ³ Grão de soja moído em peneira de 2 mm, 20% MS; ⁴ Grão de soja moído em peneira de 4 mm, 20% MS; ⁵ C1 = controle vs com grão de soja (GI+G2+G4); C2 = grão integral vs grão de soja moído (G2+G4); C3 = grão de soja moído em peneira de 2 mm vs grão de soja moído em peneira de 4 mm;

⁶ Consumo de Energia Bruta (CEB).

⁷ Consumo de Energia Digestível (CED).

⁸ $EL_L (\text{consumo}) = 0.703 \times EM (\text{Consumo}) - 0.19 + \{[(0.097 \times EM (\text{Consumo}) + 0.19)/97] \times [EE - 3]\}$; $EM (\text{Consumo}) = 1.01 \times (ED (\text{consumo}) - 0.45) + 0.0046 \times (EE - 3)$ (NRC, 2001).

⁹ EL_L para produção de leite (Mcal/dia) = Produção de leite (kg) $\times$ (0.0929 $\times$ G% + 0.0563 $\times$ proteína verdadeira % + 0.0395 $\times$ lactose%) (NRC, 2001).

¹⁰ EL_G (Variação de peso corporal) calculado pelas fórmulas do NRC (2001).

¹¹ $EL_P = EL (\text{consumo}) - EL (\text{ganho PV}) - EL (\text{leite})$.

¹² EL_L para desempenho de lactação = (EL produção de leite + EL ganho de PV).

¹³ Consumo de Energia Metabolizada (CEM).

De acordo com a produção de energia líquida de ganho, somente foi observado efeito na eficiência da utilização de energia, quando se comparou a dieta controle com as rações contendo grão de soja, onde foi observado melhor ($P < 0,05$) eficiência para rações com grãos de soja.

7 CONCLUSÕES

Por meio dos resultados obtidos neste estudo pode-se afirmar, que a utilização de 20% de grão de soja na matéria seca da dieta na forma integral ou moída não influenciou o desempenho produtivo de vacas leiteiras. Também os resultados obtidos sugerem que a moagem do grão de soja em dietas com inclusão destas sementes oleaginosas na alimentação de vacas leiteiras não é necessária, pois não foi obtido nenhum benefício adicional desta utilização.

Analisando os resultados em conjunto, concluiu-se que existe grande potencial de utilização do grão de soja cru integral na alimentação de vacas leiteiras.

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.

AVILA, 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.; LOCK, A. L. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 15, 2006, West Lafayette, Cornell University, **Proceedings...** 2006. 14 p.

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.

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

BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Review**, p. 70-567, 1990.

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.

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.

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.

CANZIANI, J.; GUIMARÃES, V. Cadeias produtivas de grandes lavouras (algodão, trigo, milho, soja, cana, mandioca, feijão e café). In: CURSO DE AGRONEGÓCIO, 2002, Francisco Beltrão. **Apostila...** Francisco Beltrão: 2002. 145 p.

CASALI, A. O. **Procedimentos metodológicos insitu 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.

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.

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. (Occasional publication). In: INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT, 2001, Bucksburnd. [**Proceendings...**Aberdeen:Rowett Research Institute. 1992. 21 p.

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

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; ROUEL, J.; LAMBERET, G. Review of Nutritional and Physiological Factors Affecting Goat Milk Lipid Synthesis and Lipolysis, **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 1751–1770, 2003.

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. 132 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

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

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.

COSTA, M. G. **Rações com diferentes fontes de gordura para alimentação de vacas em lactação**. 2008, 140 p. Tese (Doctor Scientiae) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

DELBECCHI, L.; AHNADI, C. E.; KENNELLY, J. J.; LACASSE, P. Milk fatty acid composition and mammary lipid metabolism en Holstein cows fed protected or unprotected conola seeds. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 6, p. 1375-1381, 2001.

DELUCA, D. D.; LENKINS, T. C. Feeding oleamide to lactating Jersey cows. 2. Effects on nutrient digestibility, plasma fatty acids and hormones. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 3, p. 569-576, 2000.

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

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, T. R.; NAM, S. H.; URE, A. L. Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. **Critical Reviews in Feed Science and Nutrition**, v. 45, p. 463-482, 2005.

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.; V. FISCHER; 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.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA E AGROPECUÁRIA. **Tecnologias de produção de soja – região central do Brasil 2005**. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrado: Embrapa Agropecuária Oeste: Fundação Meridional, 2004. 239 p.

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.

FAICHNEY, G. J.; GORDON, G. L. R.; WELCH, R. J.; RINTOUL, A. J. Effect of dietary free lipid on anaerobic fungi and digestion in the rumen of sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 53, p. 519-527, 2002.

FALDET, M. A.; SATTER, L. D. Feeding heat-treated full fat soybeans to cows in 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.; SLOANEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biology Chemical**, v. 226, p.497-509, 1957.

FREITAS JÚNIOR, J. E.; RENNÓ, F. P.; SANTOS, M. V.; GANDRA, J. R.; MATURANA FILHO, M.; VENTURELLI, B. C. Productive performance and composition of milk protein fraction in dairy cows supplemented with fat sources. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39,n. 4, p. 845-852, 2010a.

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

FREITAS JR., 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.

FUJIHARA, T.; ORSKOV, E .R.; PALHETAS, P.J. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal Agricultura Science**, v. 109, p. 7-12, 1987.

GAGLIOSTRO, G. A.; CHILLIARD, Y. Utilizassem de lípidos protegidos em la nutricion de vacas lecheras. II. Efectos so La concentración plamática de metabolitos y hormonas, mobilización de lípidos corporales y actividad metabólica de tejido adiposo. **Revista Argentina Animal**, Buenos Aires, v. 12, n. 1, p. 17-32, 1992.

GLAYEAN, M. L.; WAGNER, D. G.; OWENS, F. N. Corn particle size and extent of digestion by steers. **Journal Animal Science**, v. 49, n. 1, p. 204-210, 1979.

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.

GONZÁLES, F. H. D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001. p. 5-22.

GONZÁLES, F. H. D.; ROCHA, J. A. R. Metabolic profile variations and reproduction Perfomance in Holtein cows of different Milk yields in southern Brazil. **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. Gordura da dieta: Fonte energética e/ou regulador metabólico? In: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 8., 2004, Uberlândia. **Anais ...** Uberlândia: CONAPEC Jr- UNESP – BOTUCATU, 2004. p. 83-108.

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.

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.

HALL, M. B. Making nutritional sense of nonstructural carbohydrate. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 9., 1998, Gainesville, Fl. **Proceedings...** Gainesville: Florida University Press, 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.

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.

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.

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.

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

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.

LANNA, D. P. D.; MEDEIROS, S. R. **Manipulação da composição do leite e do metabolismo de nutrientes usando isômeros do ácido linolêico conjugado (ALC)**. In: II SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 2000 p.78-84.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. 3. ed. Barcelona: Saevier, 2005.

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.

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.

LICHTENSTEIN, A. H.; KENNEDY, E.; BARRIER, P.; DANFORD, D.; ERNST, N.; GRUNDY, S.; LEVEILLE, G.; VAN HORN, L.; WILLIAMS, C.; BOOTH, S. Dietary fat consumption and health. **Nutrition Reviews**, v. 56, p. 3-28, 1998.

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

LÓPEZ, S.; LÓPEZ, J.; STUMPF JUNIOR, W. Produção e composição do leite e eficiência alimentar de vacas da raça Jersey suplementadas com fontes lipídicas. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 15, n. 1, p. 1022-1301, 2007.

MCDONALD, P.; EDWARDS, R. A.; GREENHALGH, J. F. D. **Animal Nutrition**. 6. ed. Gosport: Pearson Prentice Hall, 2002. 693 p.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber 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.

MOHOMED, O. E.; SATTER, L. D.; GRUMMER, R. R.; 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.

MORA, P. J. G. **Utilização de diferentes níveis de grão de soja (*Glicini max L.*) cru moído em rações concentradas e determinação da energia líquida da silagem de milho (*Zea mays L.*) para vacas em lactação**. 1995. 104 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1995.

MÜHLBACH, P. R. F.; OSPINA, H.; PRATES, E. R.; BARCELOS, J. O. J. 2000. **Aspectos nutricionais que interferem na qualidade do leite**. In: ENCONTRO ANUAL DA UFRGS SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, Porto Alegre. Anais: Novos desafios para a produção de leiteira do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: Departamento de Zootecnia da UFRGS. p. 73-102.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2001. 381 p.

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.

OLIVEIRA, S.G. **Utilização de fontes de gordura em dieta com diferentes níveis de fibra para vacas em lactação**. 2001. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

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.

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 derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v. 68, p. 243-250, 2001.

OWENS, F. N.; GOESTCH, A. L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D. C. **The Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition**. 1993. p. 145-171.

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.; WEISBJERG, M. R.; HVELPLUND, T. Ruminal, intestinal, and total digestibilities of nutrients in cows fed diets high in fat and undegradable protein. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 1353-1364, 1993.

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.; 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.

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

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.

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

PEHRSON, B. Milk analysis, nutritional and disease status of dairy cows. In: GARNSWORTHY, P. C. **Recent developments in ruminant nutrition 4**. Wiseman: Nottingham University Press, 2002. 600 p.

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.

PERRY, T. W.; CECAVA, M. J. **Beef cattle feeding and nutrition**. 2. ed. California: Academics Press, 1995. 391 p.

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.

PRIGGE, E. C.; GALYEAN, M. L.; OWENS, F. N. Microbial protein synthesis in steers fed processed com ration. **Journal of Animal Science**, v. 26, n. 1, p. 249-254, 1978.

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

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.

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.

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.

ROSELER, D. K.; FERGNSON, J. D.; SNIFFEN, C. J.; HERREMA, J. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 76, n. 2, p. 525-534, 1993.

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.

SANTOS, F. A. P.; SANTOS, J. E. P.; THEURER, C. B.; HUBER, J. T. Effects of rumen undegradable protein on dairy cow performance: a 12 years literature review. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 3182-3213, 1998.

SAS. STATISTICAL ANALISYS SYSTEM. **User's guide.** Versão 8.0. Cary: SAS Institute, 1999. Online Doc.

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.; ELLIOIT, 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.

SHINGOETHE, D. J. Feeding dairy cows. In: KELLEMS, R. O.; CHURCH, D. C. **Livestock Feeds and Feeding**. 4. ed. New Jersey: Prentice Hall, 1998. 281-296p.

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.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos (Métodos Químicos e Biológicos)**. Viçosa: UFV, Impr. Univ., 2002. 235 p.

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. 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.

THEURER, C. B.; HUBER, J. T.; DELGADO-ELORDUY, A. Invited review: Summary of steam-flaking corn or sorghum grain for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1950-1959, 1999.

TURGEON JR., O. A.; BRINK, D. R.; BRITTON, R. A. Corn particle size mixtures, roughage level and starch utilization in finishing steer diets. **Journal of Animal Science**, v. 57, n. 3, p. 739-749, 1983.

TYMCHUK, S. M.; KHORASANI, G. R.; KENNELLY, J. J. Effect of feeding formaldehyde – an heat – treated oil seed on milk yield and milk composition. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 78, p. 693-700, 1998.

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

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.