DANIELLE DE CÁSSIA MARTINS DA FONSECA

**Comportamento alimentar, metabolismo ruminal e estabilidade do leite de
vacas alimentadas com milho floculado e diferentes níveis de
degradabilidade da proteína**

Pirassununga

2018

DANIELLE DE CÁSSIA MARTINS DA FONSECA

Comportamento alimentar, metabolismo ruminal e estabilidade do leite de vacas alimentadas com milho floculado e diferentes níveis de degradabilidade da proteína

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. Marcos Veiga dos Santos

De acordo:

Orientador

Pirassununga

2018

Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

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

T. 3603
FMVZ

Fonseca, Danielle de Cássia Martins da
Comportamento alimentar, metabolismo ruminal e estabilidade do leite de vacas alimentadas com milho floculado e diferentes níveis de degradabilidade da proteína / Danielle de Cássia Martins da Fonseca. – 2018.
115 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2018.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos.

1. Comportamento. 2. Estabilidade do leite. 3. Milho. 4. PDR. 5. PNDR. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Comportamento alimentar, metabolismo ruminal e estabilidade do leite de vacas alimentadas com milho floculado e diferentes níveis de degradabilidade da proteína", protocolada sob o CEUA nº 9571150916, sob a responsabilidade de **Marcos Veiga dos Santos e equipe; Cristian Marlon de Magalhães Rodrigues Martins; Danielle de Cássia Martins da Fonseca; Bruna Gomes Alves; Camylla Pedrosa Monteiro; Marcos André Arcari** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 03/01/2017.

We certify that the proposal "Feeding behavior, ruminal metabolism and milk stability of cows fed flocculated maize and different levels of protein degradability", utilizing 36 Bovines (36 females), protocol number CEUA 9571150916, under the responsibility of **Marcos Veiga dos Santos and team; Cristian Marlon de Magalhães Rodrigues Martins; Danielle de Cássia Martins da Fonseca; Bruna Gomes Alves; Camylla Pedrosa Monteiro; Marcos André Arcari** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 01/03/2017.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de **07/2015** a **07/2017**

Área: **Nutrição E Produção Animal**

Origem: [Animais provenientes de outros projetos](#)

Espécie: [Bovinos](#)

sexo: [Fêmeas](#)

idade: [36 a 60 meses](#)

N: [20](#)

Linhagem: [Hosltstein-Friesians](#)

Peso: [500 a 700 kg](#)

Origem: [Animais provenientes de outros projetos](#)

Espécie: [Bovinos](#)

sexo: [Fêmeas](#)

idade: [36 a 60 meses](#)

N: [16](#)

Linhagem: [Hosltstein-Friesians](#)

Peso: [500 a 700 kg](#)

Resumo: O presente projeto tem como objetivos: a) avaliar o efeito do processamento do milho, da degradabilidade ruminal da proteína e da inclusão de tamponantes na dieta sobre o comportamento ingestivo e índice de seleção de partículas de vacas em lactação; b) avaliar o efeito de alteração de dietas sobre a produção e a estabilidade do leite durante o período de adaptação. Serão realizados dois experimentos, em ambos os experimentos, serão usadas 20 vacas da raça Holandesa em lactação, alojadas em baias individuais em confinamento do tipo ☐free-stall☐, distribuídas em delineamento do tipo quadrado latino com total de 5 quadrados contemporâneos, 4 períodos de 21 dias e 4 tratamentos. No experimento 1, os tratamentos serão em arranjo fatorial 2 x 2 em que o fator 1 corresponderá ao processamento do milho (moído e floculado) e o fator 2 a relação PDR / PNDR (alta: 11% de PDR e 5,3% de PNDR; baixa: 9,8% de PDR e 6,5% de PNDR; estimados pelo NRC, 2001). No experimento 2, os tratamentos serão em arranjo fatorial 2 x 2: milho moído ou substituição parcial do milho moído por polpa cítrica x inclusão de bicarbonato de sódio e óxido de magnésio. Em ambos os experimentos, os 14 primeiros dias serão destinados a adaptação, nos quais serão avaliados a produção e a estabilidade do leite a cada troca de dietas, e os últimos 7 dias para avaliação da capacidade de seleção de dieta e comportamento ingestivo. As dietas serão formuladas com base em silagem de milho como volumoso; farelo de soja, farelo de soja protegido, ureia, grão de soja cru integral, polpa cítrica, milho moído, milho floculado, e suplemento mineral e vitamínico. Para determinação do índice de seleção das dietas, será determinado o perfil granulométrico das partículas dietéticas utilizando-se o separador de partículas modelo Penn State. Para avaliação do comportamento ingestivo das vacas serão realizadas observações nos 17º, 18º e 19º dias de cada período experimental, com observações a cada 5 minutos durante 48 horas, para determinar o tempo despendido com alimentação, ruminação, ócio e outras atividades. Amostras de leite serão coletadas a partir de dispositivo de coleta de amostra de leite no 2º, 5º (período de adaptação), 14º e 15º (período experimental) dia após troca abrupta da dieta, para determinação da estabilidade do leite ao etanol e ao aquecimento térmico à 140º C.

Local do experimento: Experimento I: Laboratório de Pesquisa em Bovinocultura de Leite (FMVZ/USP campus Pirassununga) e Experimento II: Prefeitura do Campus Administrativo de Pirassununga (FZEA/USP campus Pirassununga)

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Comissão de Ética no Uso de Animais

São Paulo, 21 de março de 2018

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Profa. Dra. Cláudia Madalena Cabrera Mori
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: FONSECA, Danielle de Cássia Martins da

Título: Comportamento alimentar, metabolismo ruminal e estabilidade do leite de vacas alimentadas com milho floculado e diferentes níveis de degradabilidade da proteína

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: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico esta obra aos meus pais Marlene Martins da Fonseca (*in memoriam*) e Linor de Jesus Lima da Fonseca e ao meu irmão Danilo Martins da Fonseca. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela vida, saúde, fé, inteligência e perseverança para conquistar essa vitória da minha vida pessoal e profissional.

Agradeço também a Deus por ter me concedido o merecimento que conviver em uma família estruturada, em um lar repleto de união e felicidade. Agradeço a aquela que me concebeu, minha querida, amada e jamais esquecida mãe Marlene Fonseca por seu amor, carinho e dedicação incansável em educar seus filhos. Agradeço ao meu pai amado, querido e amigo inseparável, Linor Fonseca que com suas palavras encorajadoras e ensinamentos sinceros que fizeram eu nunca desistir de aprender e de acreditar nas minhas capacidades. Agradeço ao meu irmão Danilo Fonseca, companheiro fiel, fonte de inspiração, de dedicação e de responsabilidade com os estudos e afazeres.

Agradeço aos meus amigos e familiares que embora distantes emanam boas energias e vibrações para meu crescimento e sucesso.

Agradeço aos professores Francisco Palma Rennó por ter reconhecido pelo interesse pela área ao me conceder a oportunidade de estágio e ao meu orientador Marcos Veiga dos Santos por ter me aceitado como mestranda e membro do Laboratório de Pesquisa em Qualidade do Leite (Qualileite / FMVZ - USP). Por vocês tenho muito respeito e admiração!

Agradeço aos pós-graduandos, mestres, doutores (Alessandra, Bruna, Camylla, Cristian, Eduardo, Gustavo, Juliana, Juliano, Larissa, Marcos, Melina, Renata, Tiago), técnicos (Carlos Eduardo, José e Lucinéia) e aos estagiários do Qualileite pela acolhida, convivência, amizade, carinho, alegrias e tristezas. Sentirei saudades!

Agradeço em especial ao zootecnista e mestre Cristian Marlon de Magalhães Rodrigues Martins por compartilhar comigo um projeto de imensa magnitude científica, o qual conduzimos juntos em três experimentos regado de ensinamentos, esforços, abstenções e momentos de descontração. Cristian, muito obrigada pela confiança, dados compartilhados e autoria em publicações; serei imensamente grata por ter tido você como irmão de experimento e a quem recorri inúmeras vezes. Te desejo muito sucesso!

Agradeço a Bruna, Camylla, Marcos e a todos os estagiários pela competência e amizade durante as coletas amostras e análise de dados dos experimentos. Agradeço também a Katiéli pela constante ajuda no manejo.

Agradeço a Melina de Melo Barcelos, pessoa iluminada, de astral elevado que chegou despretensiosamente e conquistou os meus sentimentos mais puros e verdadeiros. Às vezes minha mãe, às vezes minha filha, mas sempre minha fiel escudeira. Você fez eu perceber o

quanto a vida pode e deve ser mais simples, basta deixar acontecer afinal: "o NÃO você já tem". Seja feliz!

Agradeço as amizades que fiz dentro da Universidade, junto aos companheiros de caminhada, de vocês guardarei boas recordações. Agradeço também às amizades que fiz fora da Universidade, principalmente com os cadetes da Academia da Força Aérea (AFA), com vocês aprendi que o dia não acaba quando termina.

Agradeço aos pesquisadores e funcionários dos Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite (LPBL) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia e do Setor de Bovinocultura de Leite da Prefeitura do Campus Administrativo da Universidade de São Paulo em Pirassununga (PCAPS) pela disposição e colaboração na lida com os animais.

Ao departamento de Nutrição e Produção Animal, agradeço aos secretários João Paulo, Fábiana e Alessandra por serem tão solícitos e práticos na tentativa de amenizar a vida dos pós-graduandos. Ao Laboratório Multiusuário de Nutrição Animal e Bromatologia, agradeço as técnicas Simi, Renata e Ana pelo atendimento e suporte com as análises.

Agradeço aos professores, Júlio Balieiro, Sarita Bonagurio, Alexandre Gobesso, Cristiane Araújo, Simone Martins, Marcio Brunetto, Rosana e Paulo Mazza, pelos acompanhamentos nas aulas teóricas e participação nas aulas práticas durante o estágio de docência através do Programa de Aperfeiçoamento de Ensino.

Agradeço a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo pela estrutura física e corpo docente, imprescindíveis na minha formação.

Vocês tornaram meu fardo mais leve e meu jugo mais suave.

"De a quem você ama: asas para voar, raízes para voltar e motivos para ficar"

Dalai Lama

RESUMO

FONSECA, D. C. M. **Comportamento alimentar, metabolismo ruminal e estabilidade do leite de vacas alimentadas com milho floculado e diferentes níveis de degradabilidade da proteína.** [Feeding behavior, ruminal metabolism and milk stability of cows fed steam flakes and different levels of protein degradability] 2018. 115f. Dissertação (Mestre em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

O presente estudo foi desenvolvido em dois experimentos: 1) Tipo de processamento do milho e a relação PDR:PNDR sobre a fermentação ruminal, comportamento alimentar e seletividade ingestiva de vacas leiteiras cujos objetivos foram: a) avaliar o efeito do tipo de processamento do milho (floculado ou moído) e a relação da proteína degradável (PDR) e não degradável no rúmen (PNDR) (alta ou baixa) sobre a fermentação ruminal, o comportamento alimentar e a seletividade ingestiva de vacas leiteiras durante o período experimental; b) avaliar o efeito a curto prazo da troca da dieta contendo milho moído ou floculado e alta ou baixa relação PDR:PNDR sobre o consumo de matéria seca, produção e estabilidade do leite (teste do álcool, pH, cálcio iônico, estabilidade térmica e alcoólica) de vacas leiteiras durante período de adaptação. Foram utilizadas 20 vacas da raça Holandesa, com 162 ± 70 DEL, 666 ± 68 kg de peso corporal, $3,15 \pm 0,48$ de escore de condição corporal e $36,0 \pm 7,78$ kg/vaca/dia de produção de leite. Os resultados de metabolismo ruminal indicaram que o milho floculado reduziu a relação acetato:propionato e a concentração de ácido acético (%) e aumentou as concentrações dos ácidos valérico ($\mu\text{mol/L}$) e de propiônico (%) e o pH fecal em relação ao milho moído. Quanto ao comportamento alimentar, observou-se que o uso de milho floculado associado à alta relação PDR:PNDR e a utilização de milho moído associado à baixa relação PDR:PNDR reduziram os tempos de alimentação (TAL/ kg de MS ingerida) e de ruminação (TRU/ kg de MS ingerida) entretanto, o uso de milho floculado associado à alta ou à baixa relação PDR:PNDR aumentaram o tempo de ruminação (TRU/ kg de FDN consumido). Já para índice de seleção notou-se que a rejeição de partículas longas ($> 19,0$ mm) foi menor em vacas alimentadas com milho floculado em relação às alimentadas com moído. 2) Efeito a curto prazo da troca da dieta sobre a produção e estabilidade do leite de vacas da raça Holandesa que teve por objetivo avaliar o efeito do dia de troca da dieta com diferentes fontes de carboidrato não fibroso associado ou não a inclusão de tamponante/alcalinizante sobre CMS, produção e estabilidade do leite (teste do álcool, pH, cálcio iônico, estabilidade térmica e alcoólica). Foram utilizadas 16 vacas da raça Holandesa, com 130 ± 81 DEL, peso corporal de 660 ± 62 kg e produção média de leite de $28,5 \pm 4,79$ kg/vaca/dia. O milho moído associado à alta ou à baixa relação PDR:PNDR aumentou o CMS, entretanto o fornecimento de dieta contendo a alta relação PDR:PNDR associada ao milho moído ou floculado apresentaram redução na PL. O uso de milho floculado associado à alta relação PDR:PNDR aumentou o valor de pH das amostras de leite e em todos os tratamentos testados a concentração de Cai apresentou redução. O uso de milho floculado associado ao aumento da relação PDR:PNDR causou redução na estabilidade alcoólica do leite e o uso do milho moído associado a baixa relação PDR:PNDR aumentou a estabilidade do leite ao teste do álcool. O CMS foi a única variável que apresentou efeito da dieta, em que o uso de milho moído sem a inclusão de tamp/alc aumentou o CMS. Sendo assim, durante o período de adaptação, o efeito a curto prazo de troca foi mais nítido nas dietas contendo milho processado associado à proteínas de diferentes degradabilidades ruminal do que nas dietas contendo fontes de carboidratos não fibrosos associados à inclusão ou não de tamp/alc.

Palavras-chave: Comportamento. Estabilidade do leite. Milho. PDR. PNDR.

ABSTRACT

FONSECA, D. C. M. **Feeding behavior, ruminal metabolism and milk stability of cows fed steam flakes and different levels of protein degradability.**[Comportamento alimentar, metabolismo ruminal e estabilidade do leite de vacas alimentadas com milho floculado e diferentes níveis de degradabilidade proteínica] 2018.115 f. Dissertação (Mestre em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

The present study was developed in two experiments: 1) Corn processing type and the RDP:RUP ratio on ruminal fermentation, feeding behavior and ingestive selectivity of dairy cows. The objectives were: to evaluate the effect of corn processing type (flocculated or ground) and the ratio (high or low) of degradable (RDP) and non-degradable protein (RUP) on ruminal fermentation, feed behavior and ingestive selectivity of dairy cows during the experimental period. Indeed to evaluate the short-term effect of dietary exchange containing either ground or flocculated corn and high or low RDP: RUP ratio on dry matter intake, milk yield and stability (alcohol test, pH, ionic calcium, of dairy cows during adaptation period. Twenty Holstein cows were used, with 162 ± 70 DIM, 666 ± 68 kg body weight, 3.15 ± 0.48 body condition score and 36.0 ± 7.78 kg / cow / day of milk yield. The results of ruminal metabolism indicated that the flocculated corn reduced the acetate: propionate ratio and the acetic acid concentration (%) and increased the concentrations of valeric ($\mu\text{mol} / \text{L}$) and propionic acid (%) and fecal pH in relation to ground corn. As regards feed behavior, it was observed that the use of flocculated corn associated with high RDP:RUP ratio and the use of milled corn associated with low RDP:RUP ratio reduced feeding times (TAL / kg of intake DM) and rumination (TRU / kg of DM ingested). However, the use of flocculated corn associated with high or low RDP:RUP ratios increased rumination time (TRU / kg of NDF consumed). For the selection index, it was noted that the rejection of long particles (> 19.0 mm) was lower in cows fed flocculated maize than those fed with milled corn. 2) Short-term effect of the diet change on the production and stability of Holstein cows milk that aimed to evaluate the effect of the diet change day with different sources of non-fibrous carbohydrate associated or not with the inclusion of buffer / alkalizing on DMI, milk production and stability (alcohol test, pH, ionic calcium, thermal and alcoholic stability). Sixteen Holstein cows, 130 ± 81 DIM, body weight of 660 ± 62 kg and mean milk yield of 28.5 ± 4.79 kg / cow / day were used. Ground corn associated with high or low RDP:RUP ratios increased of intake DM; however, the diet containing the high RDP:RUP ratio associated to ground or flocculated corn showed a decrease in milk yield. The use of flocculated corn associated with high RDP:RUP ratio increased the pH value of milk samples; and in all tested treatments; the concentration of Cai presented reduction. The use of flocculated corn associated with the increase of the RDP:RUP ratio caused a decrease in the milk alcoholic stability while the use of ground corn associated with a low RDP:RUP ratio increased this variable. The intake DM was the only variable that presented a dietary effect, in which the use of ground corn without the inclusion of buffer/alk increased intake DM. Thus, during the adaptation period, the short-term effect of exchange was more pronounced in diets containing processed corn associated with proteins of different ruminal degradability than in diets containing sources of non-fibrous carbohydrates associated with the inclusion of buffer/alk .

Keywords: Behavior. Corn. UNAM. RDP. RUP.

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

AA: Aminoácidos

AAE: Aminoácidos Essenciais

AANE: Aminoácidos Não Essenciais

AGCC: Ácidos Graxos de Cadeia Curta

AGNE: Ácidos Graxos Não Esterificados

AGVCR: Ácidos Graxos Voláteis de Cadeia Ramificada

AGV: Ácidos Graxos Voláteis

Cai: Cálcio Iônico

CE: Carboidratos Estruturais

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

CF: Carboidratos Fibrosos

CMS: Consumo de Matéria Seca

CNE: Carboidratos Não Essenciais

CNF: Carboidratos Não Fibrosos

CONCEA: Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal

DEL: Dias Em Lactação

DTD: Dias de Troca da Dieta

ECC: Escore de Condição Corporal

EE: Extrato Etéreo

FDA: Fibra em Detergente Ácido

FDN: Fibra em Detergente Neutro

FMVZ: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

FZEA: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimento

GL: Gay-Lussac

HOT: Teoria da Oxidação Hepática

IS: Índice de Seleção

LDA: Lignina em Detergente Ácido

LINA: Leite Instável Não Ácido

LPBL: Laboratório de Pesquisa em Bovinocultura Leiteira

MF: Milho Floculado

MM: Milho Moído

MO: Matéria Orgânica

MS: Matéria Seca

NIDA: Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido
NIDN: Nitrogênio Insolúvel em Detergente Neutro
NNP: Nitrogênio Não Proteico
°D: Graus Dornic
PB: Proteína Bruta
PC: Polpa Cítrica
PCAPS: Prefeitura do Campus Administrativo de Pirassununga
PDR: Proteína Degradável no Rúmen
pH: Potencial Hidrogeniônico
PL: Produção de Leite
PM: Proteína Metabolizável
Pmic: Proteína Microbiana
PNDR: Proteína Não Degradável no Rúmen
PSPS: *Penn State Particle Size Separator*
PV: Proteína Verdadeira
RR: Rúmen-Retículo
RT: Ração Total
TAG: Tempo de Ingestão de Água
TAL: Tempo de Alimentação
tamp/alc: Tamponante/Alcalinizante
TC: Tempo de Coagulação
TD: Tempo em Posição Deitada
TMT: Tempo de Mastigação Total
TO: Tempo de Ócio
TOC: Tempo de Outras Atividades
TP: Tempo em Posição em Pé
TRU: Tempo de Ruminação

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Proporção dos ingredientes e composição bromatológica das dietas para vacas leiteiras da raça Holandesa.....	48
Tabela 2. Efeito do processamento do milho (floculado ou moído) e da degradabilidade ruminal da proteína sobre o comportamento alimentar de vacas leiteiras.....	53
Tabela 3. Efeito do processamento do milho (floculado ou moído) e da degradabilidade ruminal da proteína sobre o índice de seleção de partículas (partículas consumidas em porcentagem das oferecidas na dieta) de vacas leiteira.....	53
Tabela 4. Proporção dos ingredientes e composição bromatológica das dietas para vacas leiteiras da raça Holandesa.....	80
Tabela 5. Valores de P referentes ao efeito do processamento do milho (floculado ou moído) e da degradabilidade ruminal da proteína sobre o CMS e produção de leite e pH, cálcio iônico, teste do álcool e tempo de coagulação do leite de vacas leiteiras alimentadas durante o período de adaptação experimental	82
Tabela 6. Efeito do processamento do milho (floculado ou moído) e da degradabilidade ruminal da proteína sobre o CMS (kg/dia) de vacas leiteiras alimentadas durante o período de adaptação experimental de acordo com os dias de troca da dieta.....	84
Tabela 7. Valores de P referente ao efeito da fonte de CNF e da inclusão de tamponante/ alcalinizante sobre o CMS e produção de leite e pH, cálcio iônico, teste do álcool e tempo de coagulação do leite de vacas leiteiras alimentadas durante o período de adaptação experimental	85
Tabela 8. Efeito da fonte de CNF e da inclusão de tamponante/ alcalinizante sobre o CMS e produção de leite e pH, cálcio iônico, teste do álcool e tempo de coagulação do leite de vacas leiteiras alimentadas durante o período de adaptação experimental de acordo com os dias de troca da dieta.....	86

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.**pH ruminal, concentração de nitrogênio amoniacal e relação acetato:propionato das dietas com diferentes tipos de processamento do milho e diferentes relações de PDR e PNDR em dietas para vacas leiteiras.....55
- Figura 2.**Concentração molar total dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no fluido ruminal de vacas da raça Holandesa alimentadas com milho processado e proteína de diferentes degradabilidades ruminal.....56
- Figura 3.** Concentração ruminal ($\mu\text{mol/L}$) de ácido propiônico, acético, butírico, valérico, iso-valérico e iso-butírico no rúmen de vacas leiteiras alimentadas com diferentes tipos de processamento de milho e diferentes relações PDR: PNDR.....58
- Figura 4.**Proporções molares (%) de ácido propiônico, acético, butírico, valérico, iso-valérico e iso-butírico no rúmen de vacas leiteiras alimentadas com diferentes tipos de processamento de milho e diferentes relações PDR: PNDR.....59
- Figura 5.**Valor de pH fecal mensurado ao longo de 16 horas de coletas de vacas leiteiras alimentadas com dieta contendo milho floculado ou moído associados à alta ou baixa relação PDR:PNDR.....60
- Figura 6.** Valor do pH urinário mensurados a cada 3 horas ao longo de 24 horas de coletas de urina de vacas leiteiras alimentadas com dieta contendo milho floculado ou moído associados à alta ou baixa relação PDR:PNDR.....61

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO	19
1.1. HIPÓTESES E OBJETIVOS.....	21
CAPÍTULO 2. REVISÃO DE LITERATURA.....	22
2.1. CARBOIDRATOS AMILÁCEOS × CARBOIDRATOS FIBROSOS.....	22
2.2. PROCESSAMENTO DOS CARBOIDRATOS NÃO FIBROSOS	25
2.3. DEGRADABILIDADE RUMINAL DA PROTEÍNA	28
2.4. USO DE TAMPONANTES/ALCALINIZANTES NA DIETA DE VACAS LEITEIRAS	31
2.5. FERMENTAÇÃO RUMINAL.....	32
2.6. CONSUMO E SELEÇÃO DA DIETA	34
2.7. COMPORTAMENTO ALIMENTAR	37
2.8. ESTABILIDADE DO LEITE.....	40
CAPÍTULO 3. PROCESSAMENTO DO MILHO E DEGRADABILIDADE DA PROTEÍNA DIETÉTICA SOBRE A FERMENTAÇÃO RUMINAL E COMPORTAMENTO ALIMENTAR DE VACAS LEITEIRAS	44
RESUMO	44
ABSTRACT	45
3.1. INTRODUÇÃO	46
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	47
3.2.1. Seleção dos animais e descrição de tratamentos	47
3.2.2. Análises estatísticas	51
3.3. RESULTADOS	52
3.3.1. Comportamento alimentar	52
3.3.2. Índice de seleção de partículas	53
3.3.3. Metabolismo ruminal	54
3.4. DISCUSSÃO	62
3.4.1. Comportamento alimentar	62
3.4.2. Seletividade ingestiva	63
3.4.3. Metabolismo ruminal	65
3.5. CONCLUSÃO	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

CAPÍTULO 4. EFEITO A CURTO PRAZO DA TROCA DA DIETA SOBRE O CONSUMO DE MATÉRIA SECA, PRODUÇÃO E ESTABILIDADE DO LEITE DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA	72
RESUMO	72
ABSTRACT	73
4.1. INTRODUÇÃO	74
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	75
4.2.1. Seleção dos animais e descrição de tratamentos	75
4.2.2. Amostragem das dietas experimentais	76
4.2.3. Coletas de leite e análises de estabilidade	77
4.2.4. Análises estatísticas	78
4.2.5. Seleção dos animais e descrição dos tratamentos	79
4.2.6. Amostragem das dietas experimentais e Coletas de leite e análises de estabilidade	80
4.2.7. Análises estatísticas	81
4.3. RESULTADOS	81
4.3.1. Consumo de matéria seca (CMS)	82
4.3.2. Produção de leite (PL)	82
4.3.3. pH	83
4.3.4. Cálcio iônico (Cai)	83
4.3.5. Estabilidade do leite	83
4.3.1. Consumo de matéria seca (CMS)	85
4.3.2. Estabilidade alcoólica	86
4.4. DISCUSSÃO	87
4.4.1. Consumo de matéria seca (CMS)	87
4.4.2. Produção de leite (PL)	87
4.4.3. Estabilidade do leite	88
4.4.4. Consumo de matéria seca (CMS)	90
4.4.5. Produção de leite (PL)	91
4.4.6. Estabilidade do leite	92
4.5. CONCLUSÃO	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
CAPÍTULO 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	103
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO

Os ruminantes possuem a capacidade de converter alimentos de baixa qualidade em proteína de alta qualidade (VARGA e KOLVER, 1997). Os alimentos ingeridos são primeiramente fermentados no rúmen antes da digestão gástrica e intestinal. A qualidade e quantidade dos produtos dessa fermentação são dependentes das atividades microbianas no rúmen, onde as numerosas inter-relações entre os vários tipos e espécies de microrganismos tornam esse ecossistema bastante complexo (RUSSEL *et al.*, 1992).

Os tipos de substratos presente no rúmen influenciam diretamente o desenvolvimento da população microbiana, os produtos gerados pela fermentação e as condições do ambiente ruminal. Por exemplo, de acordo com as fontes de carboidratos da dieta, há alterações de pH, de disponibilidade de energia e nitrogênio, o que altera o desenvolvimento da microbiota ruminal (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

A proteína bruta (PB) contida na dieta de ruminantes é composta por uma fração degradável no rúmen (PDR) e uma fração não degradável no rúmen (PNDR). O fracionamento da PB em PDR e PNDR permite teoricamente formular dietas para: 1) suprir as exigências dos microrganismos ruminais em PDR e assim maximizar síntese de proteína microbiana (Pmic), pois a degradação da PDR ocorre por ação de enzimas secretadas por microrganismos ruminais que utilizam as fontes de nitrogênio não proteico (NNP); 2) de proteína verdadeira (PV) para a síntese de proteína microbiana e multiplicação celular (NRC, 2001).

A proteína microbiana é a principal fonte de proteína metabolizável (PM) para os ruminantes. A PNDR é a segunda fonte seguida pela proteína endógena. A precisão dos atuais sistemas proteicos, baseados nas exigências em proteína metabolizável, é altamente dependente de informações precisas quanto às frações degradáveis e não-degradáveis dos alimentos. O suprimento de quantidades adequadas de PDR e PNDR é fundamental para otimizar a produção de proteína microbiana, complementá-la adequadamente com PNDR e suprimir as exigências de PM de ruminantes. Portanto, o sucesso dos programas nutricionais de ruminantes depende da otimização da produção de Pmic (SANTOS, 2006).

O teor de PB, de PDR e a qualidade da PDR podem afetar o crescimento microbiano, já que as principais fontes de nitrogênio para os microrganismos são as fontes de NNP. As bactérias fermentadoras de carboidratos fibrosos (CF) requerem amônia como fonte de nitrogênio, enquanto que as fermentadoras de carboidrato não fibroso (CNF) têm maior requerimento por aminoácidos e peptídeos (SANTOS, 2006).

Os carboidratos não fibrosos (CNF) são a fração facilmente e quase completamente digerida pela maioria dos animais que engloba ácidos orgânicos, mono e oligossacarídeos, frutanas, amido, pectina e outros carboidratos exceto a hemicelulose e celulose, as quais são encontradas na fração da Fibra em Detergente Neutro (FDN) (VAN SOEST, 1993; HALL 2003).

Os principais fatores que afetam a digestão dos carboidratos não fibrosos (CNF) são a composição química e forma física do amido, a presença de barreiras físicas nos grãos de cereais, os fatores antinutricionais, a forma física do alimento fornecido e os diferentes tipos e intensidade dos processamentos aplicados aos alimentos (ROONEY e PFLUGFELDER, 1986; HOOVER, 2001).

Os objetivos do processamento dos grãos são o aumento da digestibilidade, o que ocorre pela diminuição das barreiras para o acesso dos microrganismos ruminais e das enzimas sobre aos componentes nutricionais dos alimentos (Mc ALLISTER *et al.*, 1990). Desta forma os processamentos dos grãos podem aumentar a digestibilidade do amido e da proteína no rúmen e intestino delgado e mudar as características da fermentação ruminal e da taxa de passagem e o sítio de digestão (THEURER *et al.*, 1986; OWENS *et al.*, 1986; NOCEK e TAMMINGA, 1991).

1.1. HIPÓTESES E OBJETIVOS

EXPERIMENTO 1: TIPO DE PROCESSAMENTO DO MILHO E DEGRADABILIDADE DA PROTEÍNA DIETÉTICA SOBRE A FERMENTAÇÃO RUMINAL E COMPORTAMENTO ALIMENTAR DE VACAS LEITEIRAS

A hipótese do Experimento 1 foi de que o processamento de floculação do grão de milho aumentaria a digestibilidade do amido, e quando associado à alta relação PDR:PNDR (67,5% de PDR e 32,5% de PNDR, em termos % de PB) da dieta, aumentaria a eficiência do aproveitamento dos nutrientes durante os processos digestivos, otimizando o tempo de alimentação e o metabolismo ruminal de vacas leiteiras.

Os objetivos gerais do Experimento 1 foram avaliar o efeito do tipo de processamento do milho (moído ou floculado) e da relação PDR:PNDR (alta ou baixa) da dieta de vacas em lactação sobre a fermentação ruminal, comportamento alimentar e seletividade ingestiva.

EXPERIMENTO 2: EFEITO A CURTO PRAZO DA TROCA DA DIETA SOBRE A PRODUÇÃO E ESTABILIDADE DO LEITE DE VACAS HOLANDESAS

As hipóteses do Experimento 2 foram de que a produção de leite e características de estabilidade do leite, como a concentração de cálcio iônico, pH, estabilidade alcoólica e térmica, seriam afetadas pelo tipo de processamento do milho, relação PDR:PNDR, fontes de CNF e a inclusão ou não de tamponante/alcalinizante na dieta.

Os objetivos gerais do Experimento 2 foram avaliar o efeito da fonte de CNF e da inclusão de tamponante/alcalinizante na dieta de vacas em lactação sobre o consumo de matéria seca, produção e estabilidade do leite durante o período de adaptação às dietas experimentais.

CAPÍTULO 2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. CARBOIDRATOS AMILÁCEOS × CARBOIDRATOS FIBROSOS

Nos ruminantes, os carboidratos compreendem entre 70 e 80% de dieta e são fundamentais para o atendimento das exigências de energia, síntese de proteína microbiana, manutenção e saúde do animal, além das exigências para produção (MERTENS, 1996).

Os carboidratos podem ser classificados quanto à função que desempenham na planta em carboidratos estruturais (CE) e não estruturais (CNE). Os CE são encontrados na parede celular dos vegetais e fornecem o suporte físico necessário para o crescimento das plantas (MERTENS, 1996). Já os carboidratos não estruturais estão localizados no conteúdo celular, em maior concentração nas sementes, folhas e hastes, e atuam como fontes de energia prontamente disponíveis ou de reserva para as plantas (MERTENS, 1992).

Dentre os fatores que afetam a digestão dos carboidratos estruturais destacam-se a espessura entre as células e a área superficial para digestão. A lignificação da parede celular pode limitar a digestão dos polissacarídeos por meio de efeito tóxico de componentes da lignina aos microrganismos do rúmen; o impedimento físico causado pela ligação química entre a lignina e os compostos fenólicos de polissacarídeos que limita o acesso das enzimas fibrolíticas ao centro de reação de um carboidrato específico; e a ação de enzimas hidrofílicas causada pela hidrofobicidade criada pelos polímeros de lignina (JUNG e DEETZ, 1993).

Em termos nutricionais, os carboidratos podem ser classificados em carboidratos fibrosos (CF) e carboidratos não-fibrosos (CNF). Nessa classificação, os CF são de digestão lenta e incompleta e incluem a celulose e a hemicelulose e, os CNF representam as frações degradadas mais rapidamente e incluem os açúcares, o amido e a pectina (MERTENS, 1996).

O amido é um polímero não estrutural de elevado peso molecular e sintetizado pelas plantas superiores com função de reserva energética nos períodos de dormência, germinação dos grãos, crescimento e rebrota (WANG et al., 1998). As plantas armazenam o amido nas raízes, caules, tubérculos e grãos. Quimicamente, o amido é constituído por dois polímeros de glicose: a amilose sendo a parte mais solúvel com ligações α -1,4 e a amiopectina sendo a parte insolúvel com ligações α -1,4 e α -1,6 (FRENCH, 1973; WANG et al., 1998). O amido é digerido por enzimas, tanto as secretadas pelos animais como pelos microrganismos.

Quantidades variáveis do amido que escapam da fermentação ruminal são digeridas até glicose no intestino delgado por enzimas de origem pancreática, como a α -amilase, e

produzidas pela própria mucosa intestinal, como a maltase e a isomaltase, de forma semelhante ao que ocorre nos monogástricos (HARMON, 1993).

A pectina é uma substância amorfa parcialmente solúvel em água e completamente solúvel em detergente neutro (VAN SOEST, 1994). Está localizada na lamela média dos vegetais e funciona como substância de adesão entre as células, sendo, em partes, responsável pela rigidez dos tecidos vegetais (DEVLIN, 1975, SALISBURY e ROSS, 1991). As moléculas de pectina estão ligadas covalentemente com a celulose e hemicelulose. Não foi demonstrada nenhuma ligação covalente entre a pectina e a lignina mesmo com o avanço da maturidade do vegetal (HALL, 1994).

A pectina não é digerida por nenhuma enzima animal, sendo classificada como fibra solúvel (HALL, 1994). Portanto, a pectina que escapa da fermentação ruminal somente poderá ser utilizada como fonte energética pelo ruminante quando fermentada a ácidos graxos de cadeia curta, no intestino grosso, por microrganismos anaeróbios à semelhança da fermentação ruminal (VAN SOEST, 1994).

Dentre os fatores que afetam a digestão dos carboidratos não estruturais destacam-se à composição química e forma física do amido, a presença de barreiras físicas nos grãos dos cereais, fatores antinutricionais, a forma física do alimento fornecido e os diferentes tipos e intensidades de processamentos aplicados aos alimentos (ROONEY e PFLUGFELDER, 1986; HOOVER, 2001).

O milho é o principal cereal utilizado nos concentrados para vacas leiteiras no Brasil, tendo como principal componente o amido, que representa 65 a 72% da MS. O milho é formado por três partes: o pericarpo ou casca, rico em fibras; endosperma, rico em amido e proteínas; o gérmen ou embrião, que é a parte vegetativa do grão, constituída principalmente por lipídeos e proteínas (HENRIQUE e BOSE, 1995).

Nas principais regiões do mundo, a maior parte do milho cultivado é do tipo farináceo (Dent – *Zea mays ssp.*). Já no Brasil, o milho cultivado é predominantemente do tipo duro (Flint – *Zea mays ssp.*) (CORREA *et al.*, 2002). A principal diferença entre os milhos farináceo e duro refere-se ao endosperma. O amido no endosperma do milho duro é quase todo rígido (vítreo), enquanto o milho farináceo tem grande parte de seu amido como endosperma farináceo (POMERANZ *et al.*, 1984). Assim os híbridos de milho se diferem pela sua relação de endosperma vítreo: farináceo (WATSON, 1987).

Como os gastos com a alimentação dos animais representam o principal custo de produção, a busca por alimentos alternativos e de baixo valor comercial, como os coprodutos agrícolas representa uma excelente forma de minimizar os gastos com alimentação visto que

na bovinocultura leiteira, esse gasto pode oscilar entre 30 e 60% dos custos, dependendo do tipo de exploração (COSTA, 2005).

Alguns coprodutos da agroindústria são particularmente ricos em pectina. É encontrada em altos níveis em polpa cítrica ou de beterraba, casca de soja e forrageiras leguminosas dicotiledôneas e ausente em gramíneas (ALLEN e KNOWLTON, 1995). Deste, a polpa cítrica é a fonte mais comum de pectina na dieta dos ruminantes (BEN-GHEDALIA *et al.*, 1989; HENRIQUE *et al.*, 1998).

Em dietas para vacas de alta produção de leite, a utilização da polpa de citros peletizada como fonte de energia em substituição a uma fonte de amido convencional, tem sido uma alternativa em sistemas intensivos de produção que utilizam animais de alto potencial genético (VAN HORN *et al.*, 1975; BELIBASAKIS e TSIRGOGIANNI, 1996), já que a polpa de citros peletizada possui de 85 a 90% do valor energético do milho (NRC, 2001).

A polpa de citros peletizada, rica em pectina, promove um padrão de fermentação com maior formação de acetato e ausência de ácido láctico. Esta característica se torna interessante quando se deseja maximizar a disponibilidade de carboidrato degradável no rúmen sem, no entanto, causar acidose (VAN SOEST, 1987).

Em comparação ao amido, a pectina possui menor propensão em causar queda de pH ruminal, devido a sua fermentação ser realizada por microrganismos celulolíticos, o que favorece a produção de acetato e não de lactato e propionato, como ocorre na fermentação por microrganismos que degradam o amido (PEDROSO e CARVALHO, 2006).

Estudo realizado com o intuito de avaliar o efeito da substituição parcial do milho moído por polpa cítrica sobre o desempenho de vacas leiteiras observou que a inclusão parcial de polpa de citros peletizada em substituição ao milho diminuiu significativamente ($P<0,05$) o consumo voluntário de amido e isso deveu-se ao fato de que os animais ao consumirem polpa cítrica ingeriram menores quantidades de amido, resultando em menores quantidades chegando ao intestino (SANTOS *et al.*, 2001).

No mesmo estudo, também foi observado efeito ($P<0,05$) da inclusão de polpa de cítrica peletizada sobre o aumento do teor e kg de gordura do leite e isso provavelmente ocorreu devido a inclusão de polpa cítrica ter aumentado a digestibilidade das frações fibrosas da dieta e a proporção molar de acetato, principal precursor lipogênico (SANTOS *et al.*, 2001).

O estudo referente ao uso de fontes de amido de diferentes degradabilidades e sua substituição por polpa cítrica em dietas de vacas leiteiras verificou que a combinação milho

processado e polpa cítrica resultam em maiores produções de produção de leite corrigida para gordura, teores de gordura e proteína em comparação a dietas contendo apenas milho como fonte energética (NUSSIO *et al.*, 2002).

Sutton *et al.* (1987), trabalharam com concentrados amiláceos (cevada, trigo, mandioca) e concentrados fibrosos (polpa cítrica e polpa de beterraba) para vacas em lactação, em proporções de 60 a 80% da dieta. Com concentrados amiláceos, quando utilizados em doses altas na dieta, houve um aumento de 22% na produção de leite, porém, uma severa depressão na concentração de gordura. A queda na concentração de gordura no leite foi menos severa para os concentrados fibrosos do que para concentrados amiláceos.

A teoria mais atual sobre os mecanismos que afetam o teor de gordura do leite, é a da produção e absorção de ácidos graxos de cadeia *trans* pelo trato digestivo da vaca leiteira, e seu efeito inibitório sobre a síntese de ácidos graxos de cadeia curta pela glândula mamaria (NRC, 2001). A produção de ácidos graxos de cadeia *trans* no rúmen é intensificada em condições de pH desfavorável à biohidrogenação realizada pelos microrganismos ruminais.

A redução no teor de amido da dieta com a inclusão de polpa cítrica em substituição parcial ou total ao milho ou de alguma outra fonte de amido, deve resultar em ambiente ruminal mais favorável aos microrganismos ruminais (VAN SOEST, 1991) e por consequência, minimizar a produção de ácidos graxos de cadeia *trans* (NRC, 2001).

2.2. PROCESSAMENTO DOS CARBOIDRATOS NÃO FIBROSOS

Os objetivos do processamento dos grãos são a melhoria da digestibilidade por meio da diminuição das barreiras que impedem o acesso dos microrganismos ruminais e das enzimas aos componentes nutricionais dos alimentos (McALLISTER *et al.*, 1990).

O processamento dos grãos aumenta o acesso dos microrganismos ruminais aos grânulos de amido pela eliminação de barreiras primárias como o pericarpo e redução da influência da matriz proteica que envolve estes grânulos (OWENS *et al.*, 1986). O efeito do método de processamento escolhido sobre o local e extensão de digestão do amido é determinado pelas condições de processamento (tamanho de partícula, extensão da fermentação de grãos ensilados com alta umidade, tempo de fermentação, densidade de floculação e extensão da gelatinização), bem como pela variedade ou híbrido utilizado (OWENS e ZINN, 2005).

Os principais métodos utilizados no processamento do grão de milho incluem tratamentos físicos ou físico-químicos. Nos tratamentos físicos, o objetivo primário é a

redução no tamanho de partícula (moagem) pela força do impacto, compressão, corte ou atrito, o que aumenta a superfície de contato, sem que haja alterações da composição química do milho (McKINNEY, 2006). Os tratamentos físico-químicos do milho (floculação, extrusão, micronização) envolvem a aplicação de calor e/ou vapor que gelatiniza o amido (DEFOOR; BROWN; OWENS, 2006; NOCEK; TAMMINGA, 1991).

A moagem fina ou grossa, extrusão, micronização, tostagem, peletização e laminação são os exemplos de processamentos a seco, enquanto que a maceração, expansão, laminação à vapor, floculação, reconstituição, explosão e cozimentos vapor são processamentos que envolvem a adição de água aos grãos, frequentemente na forma de vapor e com pressão (HALE, 1973). Segundo Theurer (1986), a união dos dois processos, redução do tamanho de partícula e aplicação de vapor, melhoraria ainda mais a eficiência de digestão dos alimentos processados pelos ruminantes.

A moagem talvez seja o processamento mais utilizado em alimentos para vacas leiteiras no Brasil, razão de baixo custo e simplicidade. A moagem é o processo pelo qual o grão é reduzido a partículas menores pelo impacto ou atrito, o que aumenta a digestibilidade do amido e da proteína. As etapas desse processo consistem na diminuição do tamanho de partículas, gerado a partir da força do impacto, corte ou atrito, e no peneiramento, que auxilia na padronização do produto, podendo este apresentar aspecto fino ou grosseiro (MOURÃO *et al.*, 2012).

Os fatores que influenciam a moagem são o tamanho da peneira, tamanho, capacidade e velocidade do moinho, tipo de grão e conteúdo de umidade do grão (THEURER, 1986). Na moagem ocorre eliminação da película externa do grão, o pericarpo, que constitui uma barreira física que dificulta o ataque microbiano e a ação das enzimas digestivas do animal (KOTARSKI *et al.*, 1992) facilitando, com isso, a digestão (BEAUCHEMIN *et al.*, 1994).

A floculação é o processo que consiste na modificação da laminação a vapor, os grãos são mantidos no condensador por 30 a 60 minutos, entre 90 e 105°C, o que aumenta a umidade do milho para 20 a 24% e intensifica o processo de gelatinização. Além dos rolos laminadores, os grãos passam por um segundo par de rolos, ajustados de forma a comprimirem com maior intensidade os grãos, deixando-os com espessura próxima de 0,9 a 1,1 mm (PEREIRA e ANTUNES, 2007).

A espessura do grão floculado é menor (0,9 a 1,1 mm) do que o grão laminado (1,5 a 2,4 mm) devido aos grãos passarem por um segundo par de rolos ajustados para comprimirem ainda mais os grãos (ENSMINGER *et al.*, 1990).

O aquecimento dos grãos na presença de água promove a solubilização parcial do amido, nos quais os grânulos de amido perdem a cristalinidade formada pelos polímeros de amilose e amilopectina (FRENCH, 1973; WANG *et al.*, 1998).

A gelatinização do amido causada pela floculação ocorre pela elevação da temperatura do grão de aproximadamente 100 °C no momento em que entram no primeiro rolo de prensagem. Há a ruptura das pontes de hidrogênio entre as moléculas de amilose e amilopectina, permite a entrada de água nos grânulos, o aumento da superfície do grão sujeita ao ataque microbiano e o rompimento da matriz proteica do milho, o que aumenta a digestibilidade do amido (THEURER *et al.*, 1999).

Os processamentos físicos como a moagem e a floculação aumentam a digestibilidade do milho por dois mecanismos principais: 1) aumento da superfície específica, o que favorece a ação enzimática e adesão bacteriana aos grânulos de amido; 2) degradação da matriz proteica que envolve os grânulos de amido, o que aumenta a ação enzimática das proteases sobre a matriz proteica no rúmen e no intestino (PERES, 2011).

O maior efeito do processamento do milho é a mudança do local de digestão de amido do intestino para o rúmen. A floculação de milho, aumenta a digestibilidade ruminal do amido e a disponibilidade de energia para os microrganismos ruminais, o que otimiza a produção de proteína microbiana (POORE *et al.*, 1993).

O local de digestão do amido determina a quantidade e a origem da energia disponível para vacas leiteiras e pode ser manipulado pelo método de processamento (NOCEK; TAMMINGA, 1991). O amido não digerido no rúmen chega ao intestino delgado onde é digerido de forma semelhante aos monogástricos. Desta forma, o processamento aumenta a utilização do amido no rúmen e reduz a quantidade a ser digerida no intestino delgado (THEURER *et al.*, 1999).

A digestão e absorção do amido no intestino delgado de ruminantes ocorrem em três fases distintas. Na primeira fase, o processo inicia-se no lúmen do duodeno por meio da ação da α -amilase pancreática. Essa enzima inicia a quebra do amido produzindo maltose e vários produtos com cadeias ramificadas denominados comumente como dextrinas. A necessidade de uma resposta adaptativa do pâncreas dos ruminantes ao aumento do amido da dieta permanece um enigma biológico e está baseado na hipótese de que a α -amilase pancreática é a fase limitante da assimilação intestinal do amido (KREIKEMEIER *et al.*, 1991). A segunda fase da digestão e absorção intestinal do amido ocorre na membrana celular da mucosa intestinal por meio da ação das enzimas maltase e isomaltase. O terceiro e final componente da digestão e absorção intestinal do amido é o transporte da glicose para fora do lúmen

intestinal e para a circulação do sistema porta. Entretanto, afirma-se que a glicose atravessa a membrana dos enterócitos por meio da ação do transportador glicose sódio-dependente (SGLT₁) e a atividade desse transportador não tem mostrado resposta adaptativa ao substrato do lúmen em bovinos (HARMON e McLEOD, 2001).

2.3. DEGRADABILIDADE RUMINAL DA PROTEÍNA

As proteínas (do grego *proteos* = primeiro) são compostos orgânicos complexos, de natureza coloidal, formados por carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, o qual difere quimicamente as proteínas dos glicídios e lipídios (ANDRIGUETTO *et al.*, 1983).

Representam uma classe variada e heterogênea de macromoléculas, formadas por polipeptídios de alto peso molecular. Quimicamente, podem ser agrupadas em proteínas simples, constituídas apenas de polipeptídios, e complexas, que contêm grupamentos adicionais, como carboidratos, lipídeos e ácidos nucleicos. Com relação à sua forma, agrupam-se em duas grandes classes: proteínas globulares, caracterizadas pela presença de cadeias polipeptídicas dobradas ou envolvidas de maneira muito compacta, e as das proteínas fibrosas, altamente assimétricas e consistem de longas cadeias ou grupos de cadeias peptídicas (HARPER *et al.*, 1982).

Quanto à hierarquia, os níveis de organização da estrutura proteica são primária, secundária, terciária e quaternária. A estrutura primária refere-se à ordem das sequências de aminoácidos nas cadeias polipeptídicas que formam as proteínas. As estruturas secundárias e terciárias estão relacionadas com a conformação das cadeias, ou seja, com as posições relativas, no espaço, em que cada um dos átomos constituintes da molécula se encontram. A estrutura quaternária refere-se a um quarto nível de organização, através do qual várias unidades monoméricas, cada uma com suas estruturas primárias, secundárias e terciárias apropriadas, podem se combinar, através de ligações e interações iguais às da estrutura terciária, originados principalmente naqueles resíduos que ficaram orientados em direção à sua superfície (HARPER *et al.*, 1982; FARFÁN, 1994).

Proteínas são macromoléculas presentes nas células, com funções diversas como componentes estruturais, funções enzimáticas, funções hormonais, recepção de estímulos hormonais e armazenamento de informações genéticas. As proteínas são compostas de unidades formadoras, os aminoácidos (AA), unidos por ligações peptídicas (SANTOS e PEDROSO, 2006). Todas as proteínas são polímeros formados de um grande número de

unidades fundamentais chamadas de aminoácidos (SIENKO e PLANE, 1976). Mas, somente L- α -aminoácidos estão presentes nas proteínas (RODWELL, 1996).

Na natureza, são encontrados cerca de 300 aminoácidos distintos e apenas 20 deles estão presentes nas proteínas de microrganismos, plantas e animais. A estrutura dos aminoácidos é composta por um grupamento carboxílico (COOH) e um grupamento amino(NH₃⁺) funcionais ligados ao carbono α (LEHNINGER *et al.*, 1995) e possuem configurações absoluta do L-gliceraldeído e, portanto, são L- α -AA.

Do ponto de vista da nutrição de animais ruminantes e não ruminantes, os aminoácidos são classificados principalmente em aminoácidos essenciais (AAE) e não essenciais (AANE) (NRC, 2001). Os AANE são produzidos pelo próprio metabolismo a partir de outros AANE ou até mesmo de AAE, sendo sintetizados em quantidades que satisfazem as exigências do metabolismo animal. Estes aminoácidos não precisam obrigatoriamente estar presentes na dieta, pois podem ser produzidos a partir de fontes de carbono e grupos amino de outros aminoácidos ou de compostos mais simples (ALVES, 2004). Já os AAE não são produzidos pelo metabolismo e nem sintetizados em quantidades suficientes para suprir as exigências nutricionais.

A PB contida nos alimentos consumidos por ruminantes é calculada como teor de nitrogênio (N) $\times$ 6,25 (fator que pode ser mudado pela fonte de alimento), assumindo o teor de N na proteína de 16%. Contudo, os alimentos contêm N na forma proteica (AAs unidos através de ligações peptídicas que formam uma molécula de proteína) e N na forma não proteica (NNP), representado por AAs livres, peptídeos, ácidos nucleicos, amidas, aminas e amônia (CARPENTER 2003).

A proteína bruta contida nos alimentos dos ruminantes é composta por uma fração degradável no rúmen (PDR) e uma fração não degradável no rúmen (PNDR). A degradação de proteína no rúmen ocorre através da ação de enzimas (proteases, peptidases e deaminases) secretadas pelos microrganismos ruminais. Esses microrganismos degradam a fração PDR da PB da dieta e utilizam peptídeos, AA e amônia, para a síntese de proteína microbiana e multiplicação celular (NRC, 2001).

Em ruminantes, os alimentos são primeiramente fermentados no rúmen antes da digestão gástrica e intestinal. A qualidade e quantidade dos produtos dessa fermentação são dependentes das atividades microbianas no rúmen, onde as numerosas inter-relações entre os vários tipos e espécies de microrganismos torna esse ecossistema bastante complexo (RUSSEL *et al.*, 1992).

A digestão das fontes proteicas (Pmic, PNDR e proteína endógena) inicia-se no abomaso e primeiramente recebem ação da enzima pepsina que é prolongada até o intestino. Ao passar para o jejuno médio, ocorre à maior parte da digestão pela ação das enzimas pancreáticas, tripsina, quimotripsina e carboxipeptidases; no íleo médio ocorre o pico da atividade das aminopeptidases e peptidases secretadas pelo intestino. A ação dessas enzimas produz aminoácidos e pequenos peptídeos que em sua maioria são absorvidos pelo epitélio intestinal, e passam para a corrente sanguínea e posteriormente para o fígado para serem metabolizados (KOZLOSKI, 2009). As fontes de proteínas que chegam ao intestino dos ruminantes são a Pmic, PNDR e proteína endógena. A mistura de AAs absorvidos provenientes da digestão dessas fontes é denominada proteína metabolizável (GUIMARÃES *et al.*, 2015).

O sistema de proteína metabolizável considera dois compartimentos com exigências nutricionais diferentes a serem alimentados, a população microbiana do rúmen e o animal propriamente dito (CLARINDO *et al.*, 2008). A microbiota ruminal utiliza a proteína degradável no rúmen (PDR) para se desenvolver, a partir do uso de fontes de nitrogênio não proteico como também de fontes de proteína verdadeira. O suprimento de quantidades adequadas de PDR é necessário para otimizar o crescimento da microbiota ruminal e consequentemente da síntese proteica. Porém, para ter um perfil adequado de proteína metabolizável, que supra as exigências dos animais, é necessário o fornecimento de fontes balanceadas de PDR e PNDR.

As bactérias são o grupo de microrganismos ruminais mais abundante e as principais responsáveis pela degradação de proteína. A maior parte da atividade das proteases bacterianas ocorre associada a superfície da parede celular e apenas 10% ou menos dessa atividade ocorre livre da célula. O primeiro passo para a degradação da proteína no rúmen é a adsorção desta pela bactéria. Tanto a fração solúvel como a não solúvel da PDR são passíveis de serem adsorvidas pelas bactérias e sofrerem a ação das proteases bacterianas. Os oligopeptídeos originados são então degradados por oligopeptidases a pequenos peptídeos e AA livres. Estes compostos são transportados para o interior das células bacterianas onde sofrem os seguintes processos: a) degradação dos pequenos peptídeos em AA livres; b) incorporação dos AA livres na proteína microbiana; c) deaminação dos AA livres em amônia e esqueletos carbônicos; d) utilização da amônia para a síntese de AA; e) difusão da amônia não utilizada para fora da célula (OWENS e ZINN, 1988; SANTOS, 2005).

Apesar de menos numerosos, os protozoários representam uma porção significativa da massa microbiana ruminal e são ativos na degradação de proteína. O mecanismo de ação dos

protozoários na degradação de proteína difere das bactérias. Estes, ao invés de formarem um complexo com a proteína, ingerem principalmente bactérias, mas também fungos e partículas pequenas de alimentos, que são digeridos no interior da célula. A digestão da proteína libera peptídeos e estes são degradados em AA livres que são então incorporados na proteína dos protozoários (NRC, 2001).

Apesar de também deaminarem AA, os protozoários não são capazes de utilizar a amônia para a síntese de novos AA. Devido à pequena taxa de passagem destes microrganismos para o intestino, estes contribuem pouco para o fluxo de proteína microbiana para o intestino. Apesar de secretarem peptídeos, AA e amônia no fluido ruminal, uma parte significativa desses compostos são disponibilizados no rúmen com a autólise celular ou morte desses microrganismos (NRC, 2001). A contribuição dos fungos para a degradação de proteínas é considerada insignificante em razão de sua população pequena no rúmen (SANTOS e PEDROSO, 2011).

Diversos fatores afetam a extensão da degradação da proteína bruta (PB) no rúmen, tais como a composição química e física da PB (teor de NNP $\times$ proteína verdadeira; a estrutura tridimensional da molécula de proteína, a presença de ligações de dissulfeto), a atividade proteolítica microbiana, o acesso microbiano a proteína, o tempo de retenção do alimento no rúmen, o pH ruminal, o processamento do alimento e a temperatura ambiente (SANTOS, 2005).

2.4. USO DE TAMPONANTES/ALCALINIZANTES NA DIETA DE VACAS LEITEIRAS

Os tampões têm a função de neutralizar o excesso de ácidos produzidos no rúmen em situações nas quais os sistemas tamponantes, principalmente o fluxo de saliva, são insuficientes (BERCHIELLE, 2006).

Tampões são combinações de um ácido fraco e seu sal. Os tampões devem ser solúveis em água e possuir um ponto de equivalência próximo ao valor do pH fisiológico do rúmen, isto é, entre 6,2 e 6,8 sendo o bicarbonato de sódio considerado um "verdadeiro tampão" pelo seu pKa de 6,25, com grande capacidade tamponante. Além disso, possui alta solubilidade no rúmen, o que permite rápida diluição no líquido e maior efetividade de ação (HUTJENS, 1991). Os "tampões verdadeiros" previnem o aumento na acidez (redução no pH), mas não aumentam o pH acima de um determinado valor (LEAL *et al.*, 2007).

De acordo com Nagaraja *et al.* (1997), os dois mecanismos mais claramente estabelecidos, em relação a modificação da fermentação ruminal proporcionada pelos tampões, estariam relacionados ao aumento ou a resistência a mudanças do pH ruminal e ao aumento da taxa fracional de saída do fluido através do orifício retículo-omasal ou aumento da taxa de diluição ruminal. O aumento na taxa de diluição do fluido seria devido ao aumento da osmolaridade, que aumentaria tanto o consumo de água como o influxo através da parede ruminal.

Segundo o Leal (2007), exemplos de tampões verdadeiros seriam o bicarbonato de sódio (NaHCO_3), o sesquicarbonato de sódio ($\text{Na}_2\text{CO}_3\text{NaHCO}_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) e o calcário calcítico (CaCO_3 , carbonato de cálcio). Os "alcalinizantes" são outro tipo de aditivo alimentar, que além de neutralizarem a acidez também podem causar um grande aumento no pH. O óxido de magnésio (MgO) é um exemplo de alcalinizante usado na alimentação animal.

Uma generalização comum é que o pH abaixo de 6,6 inibe a degradação da celulose. Sob condições normais, os microrganismos celulolíticos crescem bem em pH 6,7, e desvios substanciais para elevar ou diminuir esse valor são inibitórios. Valores de pH inferiores a 6,2 inibem a taxa de digestão e aumentam o tempo de colonização para a degradação da parede celular (VAN SOEST, 1994).

Durante o período de adaptação a dietas com altos teores de concentrado, o pH exerce uma pressão seletiva sobre os microrganismos mais sensíveis ao pH. Quando o pH cai, bactérias amilolíticas e resistentes à acidez aumentam, enquanto que microrganismos diminuem; assim a atividade relativa da amilase em relação a celulase aumenta.

Quando o pH decresce de 7,0, ficando entre 5,0 e 5,5 muitos microrganismos ruminais cessam seu crescimento, apesar de conseguirem sobreviver mesmo em altas concentrações de íons H^+ . O baixo pH pode retardar a adesão dos microrganismos à celulose, em consequência da deficiência de compostos que aumentem a adesão, semelhantes ao bicarbonato ou ao aumento dos que inibam a adesão como o amido solúvel (OWENS e GOESTSCH, 1993).

2.5. FERMENTAÇÃO RUMINAL

A fermentação ruminal, que precede a digestão gástrica nos ruminantes, torna a maior parte dos componentes nutritivos dos alimentos disponível para ser utilizada diretamente pelos tecidos dos animais. Dessa forma, os carboidratos estruturais e não estruturais, proteínas e outros substratos fermentáveis são convertidos em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC),

gás carbônico, metano, amônia e células microbianas como produtos finais da fermentação (LENG, 1970).

A fermentação, que ocorre durante o metabolismo dos carboidratos ingeridos pelos ruminantes, é um processo anaeróbio, efetuado pela população microbiana ruminal (OWENS; GOETSCH, 1993). Esses microrganismos, através de suas vias metabólicas de extração de energia e mediante a fermentação anaeróbia que ocorre durante o metabolismo dos carboidratos no rúmen, convertem os carboidratos em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), formando principalmente os ácidos acético, propiônico e butírico (OWENS; GOETSCH, 1988; LUCCI, 1997; EUN *et al.*, 2004).

A principal fonte de energia para os ruminantes são os ácidos graxos voláteis (AGCC) produzidos no rúmen pela fermentação microbiana de carboidratos e, em alguns casos, da proteína, sendo o acético, propiônico e butírico os principais (BERCHIELLI *et al.*, 2006). As proporções molares de acetato:propionato: butirato são variáveis, sendo encontrados valores de 75:15:10, em dietas ricas em carboidratos fibrosos, até 40:40:20, em dietas ricas em carboidratos não fibrosos (CNF) (GOULARTE *et al.*, 2011).

Essas variações ocorrem devido a vários fatores, tais como: como a taxa de produção individual desses ácidos, a quantidade absorvida pelo rúmen, a quantidade que passa para o omaso e abomaso, a diluição desses produtos pela saliva e o quanto esses produtos serão utilizados como fonte de energia pelos microrganismos. Assim, ocorre ampla variação na concentração individual e total desses AGCC dentro do rúmen, levando grandes dificuldades no estudo quantitativo desses ácidos (VALADARES FILHO e PINA, 2011).

O acetato é o principal AGCC produzido no rúmen pelos microrganismos ruminais, podendo representar até 75% dos AGCC produzidos em dietas ricas em volumosos e mais de 50% nas dietas ricas em concentrado. A principal via bioquímica de produção de acetato pelos microrganismos ruminais envolve a conversão do piruvato a formato e acetil-CoA pelo sistema enzimático da piruvato liase. O formato é convertido posteriormente a CO₂ e H₂ por outros microrganismos ruminais. O acetato é a fonte mais importante de energia metabolizável para o ruminante e é o principal substrato utilizado para a lipogênese que, no ruminante, ocorre no tecido adiposo (ANTUNES *et al.*, 2011).

Já o propionato possui duas vias de produção, a primeira através do piruvato que é convertido em oxaloacetato e succinato; a segunda é feita pela conversão do piruvato em lactato, via acrilato (LENG, 1970). O propionato absorvida é o principal substrato gliconeogênico do ruminante, processo metabólico que ocorre no fígado e nos rins (BERGMAN, 1990).

O butirato, por sua vez, é sintetizado no rúmen a partir do acetato e de outros compostos que resultem em acetyl-CoA, como o piruvato ou glutamato. Têm-se descrito duas vias de síntese de butirato no rúmen. A via mais importante é a que utiliza duas moléculas de acetato, que embora sem benefícios para as bactérias, resulta na regeneração de cofatores oxidados, o que permite o prosseguimento do processo fermentativo (FAHEY Jr e BERGER, 1993).

Como outros produtos da fermentação, em adição à fermentação de carboidratos, a proteólise é um processo de fermentação que produz peptídeos e aminoácidos, os quais podem ser usados como fontes de energia ou para processos biossintéticos. A proteólise é grandemente realizada pelos microrganismos ruminais e muitos aminoácidos são desaminados para formarem amônia, dióxido de carbono e AGCC. A proteólise produz não somente acetato, propionato e butirato, mas também dá origem aos ácidos graxos voláteis de cadeia ramificada ou isoácidos (AGVCR): isobutírico, isovalérico e 2-metilbutírico os quais são formados a partir da fermentação dos aminoácidos valina, leucina e isoleucina, respectivamente (BERGMAN, 1990).

Estes AGVR são nutrientes essenciais para os microrganismos que degradam fibra e para alguns que degradam carboidratos não fibrosos (BRYANT e DOESTCH, 1955; ALLISON e BRYANT, 1958; ALLISON *et al.* 1962; BRYANT e ROBINSON, 1962; DEHORITY *et al.* 1967; BRYANT, 1973). Após a absorção dos AGVR, os microrganismos sintetizam os aminoácidos essenciais (valina, leucina e isoleucina) através de processos de carboxilação redutiva (ALLISON, 1969) ou ácidos graxos de cadeia longa e aldeídos (ALLISON *et al.*, 1962).

Os resultados de vários experimentos têm mostrado que a adição de aminoácidos essenciais de cadeia ramificada aumenta a ingestão de alimentos (HUNGATE; DYER, 1956; HEMSLEY; MOIR, 1963); a digestão da celulose (van GYLSWYK, 1970; GOROSITO *et al.*, 1985); o crescimento dos microrganismos ruminais (VAN GYLSWYK, 1970; RUSSELL; SNIFFEN, 1984); e o ganho de peso (LASSITER *et al.*, 1958; FELIX *et al.*, 1980) para animais em crescimento.

2.6. CONSUMO E SELEÇÃO DA DIETA

Consumo pode ser definido como sendo a quantidade de alimento ingerido espontaneamente por um animal ou grupo de animais em um determinado período com livre acesso ao alimento. O consumo de nutrientes é um dos principais fatores limitantes da

produção de ruminantes. A capacidade de um alimento ser ingerido pelo animal depende de vários fatores que interagem em diferentes situações de alimentação, comportamento animal e meio ambiente (PEREIRA *et al.*, 2003).

A ingestão engloba as atividades de procura por alimento, seleção, apreensão, mastigação e deglutição do bolo alimentar (FISCHER *et al.*, 2002), sendo o consumo afetado por características inerentes ao animal, à planta, e ainda pelos fatores ambientais e comportamentais (THIAGO, 1984) e seu controle ocasiona mudanças no organismo do animal, sendo estas monitoradas pelo cérebro (FORBES, 1995).

O controle do consumo envolve estímulos de fome e saciedade, que operam por intermédio de vários mecanismos neuro-humorais. Os mecanismos homeostáticos que regulam o consumo procuram assegurar a manutenção do peso corporal e as reservas teciduais durante a vida adulta. Os mecanismos homeorréticos ajustam o consumo para atender as exigências específicas de vários estágios fisiológicos, como crescimento, prenhes e lactação. O apetite ou impulso de alimentação é uma função dos requerimentos energéticos, determinados pelo potencial genético ou pela condição fisiológica (MERTENS, 1994).

Durante a mastigação, as partículas do alimento são reduzidas de tamanho e lubrificadas pela saliva, preparando o bolo para a deglutição (BEAUCHEMIN *et al.*, 2008). Durante a ruminação, a produção de saliva é estimulada e as partículas também tendem a diminuir de tamanho, aumentando a gravidade específica. Essa característica facilita a passagem do alimento do rúmen para os outros órgãos do sistema digestivo (KENNEDY, 2005), pois quando a saciedade física ocorre no rúmen, a taxa de passagem da digesta determina o consumo de alimento. A taxa na qual o alimento é reduzido a partículas suficientemente pequenas para atravessar o orifício retículo-omasal e a taxa de degradação pelos microrganismos são os fatores mais importantes que limitam o desaparecimento de digesta do rúmen (BOSCH *et al.*, 1992).

Tamanhos longos de partícula podem interferir no consumo e no comportamento alimentar dos animais. Partículas longas se mantêm mais tempo dentro do rúmen para a ação de degradação (LEONARDI e ARMENTANO, 2003), tanto física quanto microbiana, diminuindo o tempo de consumo, o que pode levar a menores taxas de ganho de peso, mas auxilia no processo de manutenção das condições ruminais do animal. Tamanho de partícula reduzido da forragem pode diminuir o tempo de ruminação devido à elevada taxa de passagem, causando decréscimo do volume de saliva produzida para tamponar o rúmen e, conseqüentemente, queda de pH (WOOLFORD, 1984; KONONOFF, 2003).

- Teoria integrada física-fisiológica-psicogênica

A teoria integrada de regulação física-fisiológica-psicogênica (MERTENS, 1994) talvez seja a mais difundida e aceita. De maneira geral, o consumo em ruminantes pode ser regulado por três mecanismos básicos: físico, fisiológico e psicogênico que interagem entre si determinando o perfil alimentar de um animal a uma dada situação.

As limitações físicas estão relacionadas com a degradação do alimento e fluxo da digesta pelo rúmen e outras partes do aparelho gastrointestinal. O conceito de limitação física reporta a ocorrência da distensão e hipertonicidade do retículo-rúmen (RR), mais apropriadamente retículo-saco cranial do rúmen, por estes compartimentos concentrarem os receptores de tensão e os mecanorreceptores. Os mecanorreceptores são excitados pelos estímulos mecânico e químico e, os receptores de tensão são estimulados pela distensão do RR que passa a enviar sinais de saciedade para o sistema nervoso central, regulando o consumo, principalmente de dietas com elevados níveis de FDN, sendo essa distensão do RR, determinada pelo peso e volume da digesta (BULL *et al.*, 1976; GROVUM, 1993; ALLEN, 1996).

Em relação aos fatores fisiológicos, há evidências de que para dietas com alta densidade energética, o controle do consumo não é o próprio teor de energia, mas a concentração de ácidos graxos voláteis (AGV's) no fluido ruminal (ácido acético), nas veias ruminais e no fígado (ácido propiônico) oriundos do processo fermentativo, além de outros metabólitos que estimulam a secreção de peptídeos hormonais como a colecistoquinina que atua como regulador da saciedade, como mencionam Grovum (1993) e Van Soest (1994).

Segundo Allen, Bradford e Oba (2009), a redução do consumo em dietas com carboidratos facilmente fermentáveis, pode ser explicada pela Teoria da Oxidação Hepática (Hepatic Oxidation Theory – HOT). A maior fermentabilidade do amido da dieta aumenta a produção de ácidos graxos voláteis (AGV) por unidade de matéria orgânica fermentada no rúmen e a proporção de propionato dentre os AGV absorvidos. Propionato, assim como ácidos graxos não esterificados (AGNE) são substratos extensivamente utilizados pelo fígado de ruminantes (EMERY; LIESMAN; HERDT, 1992). A oxidação desses substratos regula a ingestão de alimentos por meio de sinais enviados do fígado para o cérebro (ALLEN; BRADFORD; OBA, 2009). Se o fluxo de propionato para o fígado ultrapassa a capacidade de gliconeogênese, o propionato será oxidado (BRADFORD; ALLEN, 2007). O propionato pode ser oxidado no ciclo do ácido tricarboxílico (AIELLO; ARMENTANO, 1987), bem como estimular a oxidação de acetil-CoA derivado de outros metabólitos (ALLEN, 2000). A

oxidação do propionato durante a ingestão aumenta o status energético hepático, gerando um sinal de saciedade para terminar a refeição (ALLEN; BRADFORD; OBA, 2009).

A modulação psicogênica é afetada por fatores inibidores ou estimuladores relacionados ao alimento ou ao ambiente, tais como fotoperíodo, odor, sabor, textura entre outras (FISCHER *et al.*, 1997; SILVA, 1999). O hipotálamo está diretamente e indiretamente envolvido no controle dos sistemas relacionados com o conteúdo de energia do corpo. O centro que controla o equilíbrio de energia no cérebro é classicamente a região ventralmedial do hipotálamo. A excitação desse centro de saciedade inibe a ingestão do alimento.

2.7. COMPORTAMENTO ALIMENTAR

Para Banks (1982), o comportamento é um aspecto do fenótipo do animal que envolve a presença ou não de atividades motoras definidas, vocalização e produção de odores, os quais conduzem as ações diárias de sobrevivência do animal e as interações sociais. Como outra característica fenotípica qualquer, o comportamento é determinado por fatores ambientais e genéticos, podendo ser visto como processo dinâmico e sensível às variações físicas do meio e a estímulos sociais.

O comportamento alimentar tem sido estudado com relação às características dos alimentos, à motilidade do pré-estômago, ao estado de vigília e ao ambiente climático. A diversidade de objetivos e condições experimentais conduziu a várias opções de técnicas de registros dos dados, na forma de observações visuais, registros semi-automáticos e automáticos e parâmetros estudados selecionados para a descrição do comportamento alimentar, como tempo de alimentação ou ruminação, número de alimentações, períodos de ruminação e eficiência de alimentação e ruminação (DULPHY *et al.*, 1980; FORBES, 1995).

As principais variáveis comportamentais estudadas, em vacas leiteiras, têm sido aquelas relacionadas às atividades de alimentação, ruminação, ócio (outras atividades) e procura por água e sombra (RAY e ROUBICEK, 1971; MONTY JUNIOR e GARBARENO, 1978; CAMARGO, 1988).

O consumo de alimento é fundamental para a nutrição, pois determina o nível de ingestão de nutrientes e, portanto, a resposta animal. O consumo de alimentos é regulado e limitado pelas exigências fisiológicas e metabólicas do animal (VAN SOEST, 1994).

Segundo Mertens (1994), existem três mecanismos que estimulam o animal a sentir fome ou sentir-se saciado, sendo eles: o efeito psicogênico, que envolve o comportamento do animal diante de fatores inibidores ou estimuladores relacionados ao alimento ou ao ambiente;

o fisiológico, onde a regulação é dada pelo balanço nutricional e o físico, o qual está relacionado com a capacidade de distensão do rúmen do animal.

Existem fatores que influenciam o consumo voluntário dos animais. De acordo com Thiago (1984), esses fatores podem ser inerentes ao animal e à planta. Os fatores relacionados ao animal incluem idade, sexo, peso vivo, fase de lactação e condições corporais. Os fatores relativos à planta, os quais incluem a composição química e a estrutura anatômica, determinam a palatabilidade, e aceitabilidade da forragem. Além do mais, fatores ambientais e comportamentais influenciam o consumo (FORBES, 1995).

Forbes (1996) diz que a probabilidade de o alimento ser ingerido pelo animal depende da ação de fatores que interagem em diferentes situações de alimentação, comportamento animal e meio ambiente. O consumo voluntário é a quantidade de alimento que um animal ingere durante determinado período, durante o qual tem livre acesso ao alimento.

O início da ruminação ocorre entre meia e uma hora após a ingestão do alimento. O número e a duração dos ciclos de ruminação dependem da estrutura (teor de fibra, tamanho das partículas), do número de refeições e da quantidade de alimento ingerido. A particularidade do processo digestivo dos ruminantes é a ruminação, ou seja, o ato de remastigar o bolo alimentar. A ruminação exerce um efeito importante sobre a redução do tamanho das partículas dos alimentos e sobre o movimento do material sólido através do rúmen. A mastigação é dividida em duas etapas: a mastigação rápida e sua função é conferir ao alimento tamanho que permita a deglutição, enquanto que na segunda o bolo alimentar é regurgitado e remastigado até atingir tamanho adequado para posterior fermentação ruminal (FURLAN *et al.*, 2011).

Segundo Van Soest (1994), o tempo de ruminação é influenciado pela natureza da dieta e parece ser proporcional ao teor da parede celular dos volumosos. Alimentos concentrados e fenos finamente triturados ou peletizados reduzem o tempo de ruminação, enquanto volumosos com alto teor de parede celular tendem a elevar o tempo de ruminação. O aumento do consumo tende a reduzir o tempo de ruminação por grama de alimento, fator provavelmente responsável pelo aumento do tamanho das partículas fecais, quando os consumos são elevados.

Uma das características do comportamento alimentar é seu padrão diurno de distribuição dos períodos de alimentação de acordo com o ciclo claro-escuro. Assim, vacas confinadas apresentam 10 a 12 desses períodos, com aproximadamente 68% do tempo despendido com alimentação ocorrendo durando o dia, entre 6 e 18h (VASILATOS e

WANGSNESS, 1980). Em consequência do manejo, esta atividade é sincronizada em torno do horário das ordenhas (FRASER e BROOM, 1990).

O período em que os animais não estão comendo, ruminando ou ingerindo água, é definido como ócio (COSTA *et al.*, 1983; SHULTZ, 1983) e, em geral, são gastos de 5 h e 48 minutos a 12 h e 48 minutos por dia nesta atividade.

Hedlund e Rolls (1977) observaram 48% do tempo dedicado ao ócio, em um período de 15h diárias. Camargo (1988), trabalhando com animais mantidos em *free stall*, verificou que 47,19% do período por dia de observação, foram dedicadas ao ócio, ou seja, 10h e 23 minutos por dia, e esse tempo não foi diferente entre os meses de observação. No entanto, Shultz (1983) mostrou que a percentagem de vacas no ócio, durante o dia, foi maior no verão (42,5%) e primavera (40,5%), que no inverno (35%).

Com relação ao tempo despendido em ruminação, verificou-se que animais mantidos em *free stall* ficaram 31,03% do tempo ruminando, ou seja, 6h e 50 minutos por dia; preferindo desempenhar essa atividade no período da noite (CAMARGO, 1988). Shultz (1983) observou que a percentagem de vacas ruminando foi maior no inverno (25,2%), seguido da primavera (22,6%) e verão (21,9%).

Quanto às posturas dos animais, como ficar de pé ou deitar, a variação na duração e na frequência destas é devida principalmente à temperatura ambiente, às instalações e ao tipo de sistema (KROHN e MUNKSGAARD, 1993; MULLER, BOTHA e SMITH, 1994; SHULTZ, 1983).

Dentre os padrões fixos de comportamento, o de deitar é considerado altamente prioritário para as vacas leiteiras. A privação do descanso pode induzir à frustração que se manifesta por comportamentos estereotipados, além de alterações no eixo hipotalâmico-hipofisário adrenal. Outras consequências incluem lesões traumáticas e outros danos físicos, resultando em problemas sanitários e baixo desempenho (KROHN e MUNKSGAARD, 1993).

Os bovinos não apresentam o sono verdadeiro como os humanos, exceto por períodos muito curtos. Eles descansam sem perda da vigilância e provavelmente sem perda da consciência. O animal pode deitar-se com os olhos fechados, mas qualquer barulho ou movimento pode causar uma resposta imediata. O comportamento de descanso apresenta três estádios: 1) em pé com os olhos abertos; 2) deitado com a cabeça ereta e os olhos abertos; 3) deitada com a cabeça firme e os olhos parcialmente fechados. O sono verdadeiro ocorre em curtos intervalos de 2 a 8 minutos (MULLER *et al.*, 1994).

A literatura mostra que o tempo de permanência das vacas na posição deitada, em um período de 24h, é geralmente, em torno de 8 a 14h (CASTLE e WATKINS, 1979; KROHN e

MUNSGAARD, 1993; MULLER *et al.*, 1994). De acordo com Roman-Ponce *et al* (1977), esse tempo apresenta uma distribuição na qual, normalmente, às 18h, 57% das vacas estão deitadas, e, a partir das 21h, com exceção das vacas que se alimentam em períodos tardios, a maioria dos animais (76%) deita para ruminar e/ou descansar.

Perera *et al.* (1986), estudando o impacto da estação do ano sobre a resposta comportamental, observaram uma tendência de as vacas passarem duas ou três horas ininterruptas deitadas, uma ou duas horas de pé e, aproximadamente, uma hora no cocho de alimentação, mas com vários períodos de ingestão de alimento. Todas essas variáveis eram significativamente afetadas pela estação. Camargo (1988) concluiu que houve no verão uma tendência de maior concentração de vacas ruminando de pé (14,7%) que deitadas (2,7%).

De acordo com Grant e Albright (2001), no comportamento de vacas leiteiras, a alimentação juntamente com a ruminação, são os fatores que predominam no comportamento e o consumo é o principal fator que influencia a produção de leite e mudanças de condição corporal durante a lactação.

2.8. ESTABILIDADE DO LEITE

Vários fatores interferem de forma complexa na qualidade do leite, entre eles: fator genético (espécie, raça dos animais, individualidade animal), fatores intrínsecos do animal (idade, estágio de lactação, número de lactações), fatores nutricionais (tipo de alimento e disponibilidade, forma de conservação, adequação da dieta às exigências do animal), fatores ambientais (condições ambientais, estresse, estação do ano, manejo), fatores extrínsecos (sanidade, contaminação bacteriana), etc. De forma geral, a qualidade do leite é resultado da gestão do sistema de produção de leite (ZANELA *et al.*, 2015).

O LINA (Leite Instável Não Ácido) é um problema no sistema de produção de leite que resulta em prejuízos a toda cadeia produtiva. Ele acomete rebanhos leiteiros e se caracteriza por apresentar alterações nas características físico-químicas do leite. A principal alteração identificada é a perda da estabilidade da caseína ao teste do álcool, resultando em precipitação positiva, sem haver acidez elevada (acima de 18°D) (ZANELA, 2004)

Entre os diversos testes realizados para avaliar a qualidade do leite produzido, um dos mais utilizados é a prova do álcool ou alizarol que é realizada nas propriedades rurais antes do recebimento do leite pelo transportador e novamente é realizada na plataforma de recebimento do leite nas indústrias. Segundo a legislação, o leite que precipita nesse teste não deve ser transportado para a indústria. Esse teste é usado para estimar a estabilidade térmica do leite, e

o leite que precipita é considerado instável, embora alguns estudos (MOLINA *et al.*, 2001; NEGRI *et al.*, 2001; MACHADO, 2010), questionem essa relação entre estabilidade na prova do álcool e térmica.

Guo *et al.*, (1998) mencionam que a estabilidade coloidal das micelas de caseína depende de vários fatores, como a composição das micelas e sua estrutura, pH do meio, temperatura, força iônica ou balanço de sais, especialmente a concentração de cálcio iônico e fosfatos. Resultados positivos podem ser detectados quando houver acidificação do leite devido à presença de culturas bacterianas, e mais recentemente, tem sido descrita a instabilidade da caseína sem relação com acidez elevada (MARQUES *et al.*, 2007).

Vários fatores vêm sendo estudados para identificar aqueles que predispõem a ocorrência do LINA:

-Fatores nutricionais:

Dentre os fatores estudados, a restrição alimentar com consequente subnutrição ou desequilíbrio nutricional se destacam por reduzir a estabilidade do leite no teste do álcool. A restrição, provocada pela redução de 40 a 50% da quantidade de alimento oferecida, a um tempo, reduziu a produção leiteira e aumentou a frequência da ocorrência do LINA e/ou reduziu a concentração mínima de etanol necessária para induzir a coagulação do leite (ZANELA *et al.*, 2006). Em estudos desenvolvidos por Fruscalso *et al.* (2013) evidenciam que a situação de restrição alimentar em que a baixa disponibilidade de matéria seca na pastagem ou a restrição do tempo de pastejo diminuiu a concentração mínima de álcool necessária para desestabilizar as amostras de 75,8 para 69°GL.

Segundo Stumpf *et al.* (2013), a relação entre restrição alimentar e redução da estabilidade poderia estar relacionada ao aumento da permeabilidade das junções firmes entre as células epiteliais mamárias (onde o maior influxo de sódio e eventualmente cloretos pela via para celular aumentaria a força iônica ou promoveria o desequilíbrio salino e, consequentemente, reduziria a carga negativa líquida entre as micelas de caseína e aumentaria as suas chances de coagulação (CHAVEZ *et al.*, 2004).

Gabbi (2013) cita que as principais consequências da restrição alimentar sobre a produção de leite e os componentes lácteos são a redução do aporte de nutrientes para a glândula mamária e a alteração na função mamária. Os efeitos da restrição alimentar sobre a estabilidade do leite são variáveis, sendo dependentes da condição nutricional prévia dos animais, da produtividade dos mesmos, da possibilidade desses em compensar eventuais

reduções no aporte da suplementação com aumento da atividade de pastejo, além da magnitude e duração da restrição alimentar.

Marques *et al.* (2010), utilizando dietas ajustadas em energia e proteína verificaram maior eficiência na melhoria da estabilidade do leite na prova do álcool, do que usando dietas ajustadas apenas em proteína. Abreu (2008) ajustou a dieta de animais alimentados a base de silagem de sorgo, capim elefante e concentrado comercial, utilizando os mesmos nutrientes, mas de forma a atingir 100% das exigências segundo o NRC (2001) e verificou que o ajuste aumentou a estabilidade do leite.

- Tempo de lactação

O estágio de lactação afeta a estabilidade do leite, provavelmente, devido a alterações na concentração de proteínas (fase inicial), de cátions divalentes e sua proporção com ânions e equilíbrio salino. Vacas no início da lactação (TSIOULPAS *et al.*, 2007) apresentaram reduzida estabilidade térmica, assim como aquelas em estágio lactacional avançado manifestaram elevada incidência de LINA, apesar de terem sido bem alimentadas e não apresentarem mastite (MARQUES *et al.*, 2010), o que foi relacionado aos elevados teores de cálcio iônico do leite (TSIOULPAS *et al.*, 2007; LEWIS, 2011).

Barros *et al.* (1999) observaram maior incidências de amostras positivas no teste do álcool no início da lactação. Essa reduzida estabilidade nos primeiros dias pós-parto pode ser consequência da baixa estabilidade do colostro. Segundo esses autores, o avançar da lactação promove aumento na estabilidade láctea, a qual volta a reduzir nos últimos dias do estágio lactacional. Marques *et al.* (2010) avaliaram o efeito de duas dietas: baixo e alto nível de suplementação, fornecidas a vacas em estágio avançado de lactação e não encontraram diferença na estabilidade do leite ao teste do álcool. Tal efeito pode estar associado a alterações no equilíbrio salino do leite.

- Alterações metabólicas:

As alterações digestivas e/ou metabólicas foram relacionadas à queda da estabilidade do leite, possivelmente, devido à acidose metabólica induzida pela acidose ruminal (PONCE e HERNANDES, 2005) ou pela adição de sais aniônicos à dieta durante a lactação, para induzir acidose metabólica (MARQUES *et al.*, 2011). Nesse último caso, a redução da estabilidade foi relacionada à redução do pH e ao aumento do cálcio iônico.

Tsioulpas *et al.* (2007), Chavez *et al.* (2004), Barros *et al.* (2000) compararam leite positivo ou negativo no teste do álcool a 76°GL e encontraram valores médios de Ca^{2+} mais

elevados em amostras positivas, indicando que a concentração de álcool necessária para induzir a coagulação das proteínas é inversamente proporcional ao teor de cálcio iônico do leite. Por outro lado, Barbosa *et al.* (2010) em um trabalho envolvendo diferentes níveis de energia e proteína na dieta de vacas em lactação não encontraram correlação do cálcio iônico com a estabilidade do leite ao teste do álcool.

- Mastite

A sanidade da glândula mamária (mastite subclínica) aparentemente não exerce efeitos marcantes sobre a estabilidade do leite no teste do álcool, por isso existem dúvidas sobre até que ponto o teste do álcool consegue identificar leites mastíticos. Entretanto Oliveira *et al.* (2011), verificaram que o leite estável apresentou menor número de células somáticas que o instável.

Alguns autores afirmam não haver relação positiva entre a mastite e a instabilidade (DONATELE *et al.*, 2003; ZANELA, 2004; NEGRI *et al.*, 2001). Por outro lado (Oliveira *et al.*; 2011; Marques; 2004) identificaram maior contagem de células somáticas no leite instável, quando comparada com o valor médio obtido para o leite estável.

Kolling (2012) avaliou a relação entre a contagem de células somáticas do leite oriundo de diferentes quartos mamários de vacas com mastite subclínica. Nesse estudo, as amostras foram coletadas dos quartos mamários de forma individual, sendo que não houve diferença significativa da instabilidade do leite dos quartos mamários saudáveis e dos mastíticos.

CAPÍTULO 3. PROCESSAMENTO DO MILHO E DEGRADABILIDADE DA PROTEÍNA DIETÉTICA SOBRE A FERMENTAÇÃO RUMINAL E COMPORTAMENTO ALIMENTAR DE VACAS LEITEIRAS

Corn processing and protein degradability ratio on ruminal fermentation and feeding behavior of dairy cows

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do tipo de processamento do milho (**MF**: floculado vs **MM**: moído) e da relação da proteína degradável (**PDR**) e não degradável no rúmen (**PNDR**) (alta e baixa) sobre a fermentação ruminal, o comportamento alimentar e a seletividade ingestiva de vacas leiteiras. Foram utilizadas 20 vacas da raça Holandesa, com 162 ± 70 dias em lactação (**DEL**) e produção média de leite de $36,0 \pm 7,78$ kg/vaca/dia; sendo oito vacas portadoras de fístula ruminal. As vacas foram alojadas em baias individuais para controle diário do fornecimento da dieta, de modo a permitir 5 a 10% de sobras do total de MS oferecida. O delineamento experimental adotado foi o quadrado latino 4×4 , com 5 quadrados contemporâneos, 4 tratamentos e 4 períodos de 21 dias, sendo os primeiros 14 dias para adaptação das vacas às dietas e os últimos 7 dias para coleta de dados e amostras. Os tratamentos testados foram (milho floculado associado à alta relação PDR:PNDR; milho floculado associado à baixa relação PDR:PNDR; milho moído associado à alta relação PDR:PNDR e milho moído associado à baixa relação PDR:PNDR) organizados em arranjo fatorial 2×2 , sendo o fator 1 correspondente ao tipo de PM (MM - peneira de 2mm ou MF) e fator 2 correspondente à relação PDR:PNDR (AR: 67,5% de PDR e 32,5% de PNDR; BR: 60% de PDR e 40% de PNDR em termos % de PB). Amostras de líquido ruminal foram coletadas em 8 tempos (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 16 horas) após o fornecimento da alimentação matinal e analisadas para determinação do pH, concentração de amônia e ácidos graxos de cadeia curta (**AGCC**). O comportamento alimentar das vacas foi avaliado por observações visuais a cada 5 minutos durante 48 horas para avaliação dos tempos de alimentação (**TAL**), ruminação (**TRU**), mastigação total (**TMT**), ingestão de água (**TAG**), ócio (**TOC**), outras atividades (**TO**), posição deitada (**TD**) e posição em pé (**TP**). Para avaliação do índice de seleção da dieta, foi estimado o perfil granulométrico das partículas da dieta e das sobras, por meio do separador de partículas. Os resultados de metabolismo ruminal indicaram que o milho floculado reduziu a relação acetato:propionato e a concentração de ácido acético (%) e aumentou as concentrações dos ácidos valérico ($\mu\text{mol/L}$) e de propiônico (%) e o pH fecal em relação ao milho moído. Quanto ao comportamento alimentar, observou-se que o uso de milho floculado associado à alta relação PDR:PNDR e a utilização de milho moído associado à baixa relação PDR:PNDR reduziram os tempos de alimentação (**TAL**/ kg de MS ingerida) e de ruminação (**TRU**/ kg de MS ingerida) entretanto, o uso de milho floculado associado à alta ou à baixa relação PDR:PNDR aumentaram o tempo de ruminação (**TRU**/ kg de FDN consumido). Já para índice de seleção notou-se que a rejeição de partículas longas ($> 19,0$ mm) foi menor em vacas alimentadas com milho floculado em relação às alimentadas com moído. Sendo assim, o presente estudo nos permite inferir que vacas leiteiras em lactação submetidas a dieta contendo milho processado e proteína de diferentes degradabilidades ruminal apresentaram alteração de metabolismo ruminal, comportamento alimentar e seletividade ingestiva.

Palavras-chaves: Amido. Digestibilidade. Floculado. Moído

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the effect of processed corn (FC: flocculated vs. GC: ground) and RDP and RUP ration (high and low) on rumen fermentation, feeding behavior and ingestive selectivity of dairy cows. Twenty Holstein cows with 162 ± 70 DIM and average milk yield of 36.0 ± 7.78 kg / cow / day were used; being eight cows carrying ruminal fistula. The cows were housed in individual pens for daily control of the delivery, so as to allow 5 to 10% leftovers of the total DM offered. The experimental design was the 4×4 Latin square, with 5 contemporary squares, 4 treatments and 4 periods of 21 days, with the first 14 days for adaptation of cows to the diets and the last 7 days for data collection and samples. The tested treatments were: (flocculated corn associated to high RDP:RUP ratio, flocculated corn associated with low RDP:RUP ratio, ground corn associated with high RDP:RUP ratio and ground corn associated with low RDP:RUP ratio). They were arranged in a factorial arrangement 2×2 , with factor 1 corresponding to the type of processed corn (GC - 2 mm or FC) and factor 2 corresponding to the RDP:RUP ratio (high: 67.5% RDP and 32.5% RUP; low: 60% RDP and 40% RUP in% CP terms). Samples of ruminal fluid were collected in 8 times (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 and 16 hours) after feeding the morning feed and analyzed for pH, ammonia concentration and short chain fatty acids (SCFA). The cows' feeding behavior was evaluated by visual observations every 5 minutes for 48 hours to evaluate feeding time (TAL), rumination (TRU), total chewing (TMT), water intake (TAG), leisure (TOC), other activities (TO), lying position (TD) and standing position (TP). In order to evaluate the dietary selection index, the particle size profile of the dietary particles and the leftover was estimated by the particle separator. The results of ruminal metabolism indicated that the flocculated corn reduced the acetate: propionate ratio and the acetic acid concentration (%) and increased the concentrations of valeric ($\mu\text{mol} / \text{L}$) and propionic acid (%) and fecal pH in relation to ground corn. As regards feed behavior, it was observed that the use of flocculated corn associated with high RDP:RUP ratio and the use of ground corn associated with low RDP:RUP ratio reduced feeding times (TAL / kg of ingested DM) and rumination (TRU / kg of intake DM). However, the use of flocculated corn associated with high or low RDP:RUP ratios increased the rumination time (TRU / kg of NDF consumed). For the selection index, it was noted that the rejection of long particles (> 19.0 mm) was lower in cows fed flocculated maize than those fed with milled corn. Thus, the present study allows us to infer that lactating dairy cows submitted to a diet containing processed corn and protein of different rumen degradability showed alteration of ruminal metabolism, feeding behavior and ingestive selectivity.

Keywords: Starch. Digestibility. Flocculated. Ground

3.1. INTRODUÇÃO

No Brasil, as variedades de milho mais cultivadas para produção de grãos e silagem são de textura dura com endosperma vítreo, nas quais os grânulos de amido são revestidos por uma densa matriz proteica, altamente resistente à hidrólise enzimática e de menor digestibilidade (PAES, 2006). As estratégias de processamento, tais como moagem e floculação, aumentam a digestibilidade do amido e disponibilizam maior quantidade de energia da dieta (THEURER *et al.*, 1999). A moagem aumenta a superfície de contato com o alimento, o que favorece a adesão bacteriana aos grânulos de amido, enquanto que na floculação ocorre a degradação da matriz proteica, com consequente aumento da atividade de proteases no rúmen e no intestino (PERES, 2011).

Além do tipo de processamento, o suprimento de quantidades adequadas de proteína degradável (PDR) e não degradável no rúmen (PNDR) é necessário para otimizar a produção de proteína microbiana (Pmic), suprir as exigências de proteína metabolizável (PM) (SANTOS e MENDONÇA, 2011) e modular a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (NOCEK; TAMMINGA, 1991). Vacas leiteiras alimentadas com dietas com adequada concentração energética podem ser alimentadas com fontes de nitrogênio não proteico, como a ureia, afim de suprir as demandas de PDR (CARMO *et al.*, 2005). Por outro lado, o excesso de proteína na dieta causa desperdícios de nitrogênio, maior gasto energético e liberação excessiva de ureia via urina (AMORIM, 2013).

A ingestão da dieta, no entanto, pode ser limitada por características nutricionais e sensoriais dos alimentos, fatores intrínsecos aos animais ou por condições ambientais e de manejo. Entretanto, pouco é conhecido sobre como os ruminantes se comportam para ajustar as suas reservas corporais, consumo e produtividade, a partir de seus pontos críticos ou ótimos, na tentativa de se amenizar os possíveis efeitos da dieta sobre o metabolismo ruminal (MERTENS, 1992). Por exemplo, ainda não foi determinado o efeito do processamento do milho associado com diferentes relações de degradabilidade ruminal da fonte proteica sobre o metabolismo ruminal, comportamento alimentar e seletividade ingestiva de vacas leiteiras em lactação.

Assim, as hipóteses testadas neste estudo foram que o comportamento alimentar e a seletividade ingestiva de vacas alimentadas com milho floculado (MF) se alteram para compensar e atenuar os efeitos da diminuição do pH ruminal causada pela maior quantidade de carboidratos prontamente fermentáveis no rúmen. Também se haveria efeito de interação entre o processamento do milho e a relação de PDR:PNDR sobre o metabolismo ruminal,

sobretudo na eficiência de uso do nitrogênio ruminal e por fim, dietas a base de MF aumentariam a concentração de ácido propiônico no rúmen e reduziriam o tempo de alimentação (TAL) e de ruminação (TRU) das vacas. Para testar estas hipóteses, o presente estudo objetivou avaliar o efeito do processamento do milho (MF vs MM) e da relação PDR:PNDR sobre a fermentação ruminal, o comportamento alimentar e a seletividade ingestiva de vacas da raça Holandesa no decorrer do período experimental.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais aplicados neste estudo obedeceram aos princípios éticos na experimentação animal bem como as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) e protocolada sob o CEUA nº 9571150916.

3.2.1. Seleção dos animais e descrição de tratamentos

Foram utilizadas vinte vacas da raça Holandesa, com 162 ± 70 dias em lactação (DEL), peso corporal de 666 ± 68 kg, escore de condição corporal (ECC) médio de $3,15 \pm 0,48$ e produção média de leite de $36,0 \pm 7,78$ kg de leite/vaca/dia; sendo oito delas portadoras de fístula ruminal. As vacas foram distribuídas em blocos casualizados sendo 3 vacas sem fístula e 2 vacas com fístula ruminal em cada quadrado. Durante o estudo, as vacas foram alojadas em baias individuais e o fornecimento de alimentos foi realizado duas vezes ao dia, às 07h00 e às 13h00, com ajuste diário do consumo, de modo a permitir 5 a 10% de sobras. O acesso à dieta e à água foi *ad libitum* e o volumoso e o concentrado foram misturados manualmente na forma de dieta completa.

O delineamento experimental adotado foi o quadrado latino 4×4 , com 4 quadrados contemporâneos, 4 tratamentos e 4 períodos de 21 dias, sendo os primeiros 14 dias destinados a adaptação das vacas às dietas e os últimos 7 dias para a coleta de dados e amostras. Os tratamentos testados foram (milho floculado associado à alta relação PDR:PNDR; milho floculado associado à baixa relação PDR:PNDR; milho moído associado à alta relação PDR:PNDR e milho moído associado à baixa relação PDR:PNDR) distribuídos em arranjo fatorial 2×2 , no qual o fator 1 correspondeu ao processamento do milho (MM - 2 mm ou MF) e o fator 2 à relação PDR:PNDR (alta: 67,5% de PDR e 32,5% de PNDR; baixa: 60% de

PDR e 40% de PNDR, em termos % de PB). As dietas foram formuladas com silagem de milho como volumoso, farelo de soja, farelo de soja extrusada (SoyPass®, Cargill, Brasil), ureia, grão de soja cru integral, polpa cítrica, milho moído, milho floculado e suplemento mineral e vitamínico (Tabela 1).

Tabela 1. Proporção dos ingredientes e composição bromatológica das dietas para vacas leiteiras da raça Holandesa

Ingredientes, (g/kg de MS)	Milho Moído		Milho Floculado	
	Alta PDR ¹	Baixa PDR ²	Alta PDR ¹	Baixa PDR ²
Silagem de milho	0,04947	0,04946	0,04947	0,04946
Milho moído	0,0212	0,0212	-	-
Milho floculado	-	-	0,0212	0,0212
Farelo de soja	0,01034	0,00919	0,01034	0,00919
Farelo de soja extrusado ³	0	0,00447	0	0,00447
Grão de soja	0,00669	0,00669	0,00669	0,00669
Ureia	0,00078	0,00028	0,00078	0,00028
Polpa cítrica	0,00843	0,00563	0,00843	0,00563
Fosfato bicálcico	0,00028	0,00028	0,00028	0,00028
Bicarbonato de Na	0,0008	0,0008	0,0008	0,0008
Sal comum	0,00031	0,00031	0,00031	0,00031
Óxido de Mg	0,00019	0,00019	0,00019	0,00019
Suplemento Mineral- Vitamínico ⁴	0,00151	0,00151	0,00151	0,00151
MS	0,03936	0,03836	0,03906	0,04047
Amido	0,02643	0,02643	0,02605	0,02605
PB	0,01558	0,01574	0,01547	0,01564
EE	0,00295	0,00303	0,00302	0,0031
FDN	0,03515	0,03486	0,03558	0,03528
FDA	0,02279	0,02266	0,02307	0,02293
Lignina	0,0057	0,00603	0,00565	0,00598

¹Alta PDR: alta relação de proteína degradável (PDR) / não degradável (PNDR) no rúmen = 11% de PDR e 5,3% de PNDR (valores de PDR e PNDR estimados pelo NRC, 2001). ²Baixa PDR: baixa relação de PDR/PNDR no rúmen = 9,8% de PDR e 6,5% de PNDR. MS: matéria seca; AM: amido; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; LIG: lignina; ³Soypass®, Cargill, Brasil; ⁴Suplemento: mineral mixture composition per kilogram: 242 g of Ca [minimum (min)], 30 mg of Co (min), 1,008 mg of Cu (min), 80 g of S (min), 390 mg of Fl (max), 39 g of P (min), 60 mg of I (min), 20 g of Mg (min), 2,998 mg of Mn (min), 1,100 mg of monensin sodium (min), 30 mg of Se (min), 4,032 mg of Zn (min), 400,000 IU of vitamin A (min), 40,000 IU of vitamin D3 (min), and 1,450 IU of vitamin E (min).

As pesagens das quantidades dos volumosos e concentrados fornecidos e das sobras de cada tratamento foram feitas diariamente para estimativa do CMS. Durante 4 dias do período experimental foram coletadas amostras dos alimentos fornecidos, e armazenadas a -20° C, de modo a compor uma amostra composta por animal de cada período para cada variável (sobras e dieta completa) com base no peso seco ao ar para realização de análises bromatológicas.

As amostras de alimentos foram descongeladas à temperatura ambiente, e pré-secadas à 65° C por 72 horas em estufa com ventilação forçada, até atingirem peso constante. Após a secagem, as amostras foram moídas em moinho de facas do tipo Willey (Marconi® - MOD - 0,48), com o uso de peneiras de crivo 1 mm para posteriores análises de composição química. Para as amostras de alimentos foram analisados os teores de matéria seca (MS; método 930.15; AOAC, 2000), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM método 942.05; AOAC, 2000), extrato etéreo (EE; método 920.39; AOAC, 2000), proteína bruta (PB; $N \times 6,25$; método 984.13; AOAC, 2000); fibra em detergente neutro (FDN), utilizando α -amilase e sem adição de sulfito de sódio ao detergente, e fibra em detergente ácido (FDA), determinados de acordo com (MERTENS, 2002). Adicionalmente, nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e lignina em detergente ácido (LDA) foram determinados conforme Van Soest *et al.* (1991).

Para observar o efeito dos tratamentos sobre o desempenho produtivo das vacas, foi realizada a avaliação do comportamento alimentar usando metodologia adaptada de BÜRGER *et al.* (2000). As descrições do comportamento alimentar eram registradas na forma de observações visuais a cada 5 minutos durante 48 horas no 17º, 18º e 19º dia de cada período experimental e as variáveis analisadas foram os tempos de: a) alimentação (TAL, min); b) ruminação (TRU, min); c) ruminação por kg de MS ingerida (TRU/ kg de MS ingerida); d) ruminação por kg de FDN consumido (TRU/ kg de FDN ingerido); e) ócio (TO, min), correspondente ao tempo em que o animal foi observado em repouso seja deitado ou em pé, interagindo com os outros animais ou com o cocho/bebedouro/estrutura da baia; f) ingestão de água (TAG) e g) outras atividades (TOUT), quando a atividade registrada não se enquadrava em nenhuma das descrições acima. A variável tempo de mastigação total (TMT, min) foi determinada pelo somatório do TAL e do TRU (POLLI *et al.*, 1996).

Para determinação do perfil granulométrico das partículas dietéticas utilizou-se o separador de partículas modelo *Penn State Particle Size Separator* (PSPS), de acordo com a metodologia proposta por Lammers *et al.*, (1996). Aproximadamente 1000 g das dietas foram pesadas, transferidas para o separador de partículas *Penn State* submetidas a agitação manual. Os alimentos foram separados em quatro diferentes tamanhos de partículas de acordo com o diâmetro das peneiras (> 19,0 mm, 19,0 a 8,0 mm; 8,0 a 1,18 mm; < 1,18 mm) (LAMMERS *et al.*, 1996 e KONONOFF *et al.*, 2003).

O cálculo do índice de seleção da dieta (IS) foi realizado segundo a metodologia descrita por (LEONARDI; ARMENTANO, 2003) como o consumo efetuado pelos animais correspondente a cada peneira (P1 a P4) expresso pela porcentagem do consumo total predito,

sendo P1: peneira com abertura de 19 mm; P2: peneira com abertura de 8 mm, P3: peneira com abertura de 1,18 mm e P4: fundo sem abertura. O índice de seleção foi obtido pelas seguintes equações:

$$\text{Consumo predito} = \% \text{ retenção de Px oferecido} * \text{consumido}$$

$$\text{Consumo observado} = (\% \text{ retenção de Px} * \text{oferecido}) - (\text{retenção de Px} * \text{sobras})$$

$$\text{Índice de Seleção (IS)} = (\text{consumo observado} / \text{consumo predito}) * 100$$

Em que o consumo predito da fração Px foi igual ao quociente entre a matéria original ingerida e a matéria original da fração da Px da ração total (RT), sendo que valores de IS $\leq$ 100% indicaram rejeição do alimento, $\geq$ 100% indicaram consumo preferencial e igual a 100% quando não houve seleção.

As amostras de líquido ruminal foram coletadas manualmente de cinco pontos do rúmen (cranial, caudal, ventral, lateral direito e esquerdo) nos tempos 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16 horas após o fornecimento da alimentação matinal, no último dia de cada período experimental. O pH ruminal foi determinado imediatamente após a coleta, utilizando o medidor de pH portátil TEC-3P-MP (Tecnal®).

As amostras de líquido ruminal foram centrifugadas à 3000 RPM por 15 minutos e posteriormente, 1,6 mL do sobrenadante foi pipetado em tubo do tipo eppendorf (Axygen® Brand Products, Nova York, EUA), contendo 0,4 mL de ácido fórmico P.A.; sendo arrolhados e congelados até a avaliação da concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), no Laboratório de Fermentabilidade Ruminal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos FZEA/USP. As concentrações de AGCC no fluido ruminal foram determinadas por cromatografia em fase gasosa (GC-2014, Shimadzu, Japão), através de uma coluna capilar (Stabilwax®, Restek, EUA; 30m de comprimento/ 0.53mm de diâmetro interno) a 145°C (isotérmica) e um injetor split/splitless e detector dual FID a 250°C, utilizando o método descrito por Erwin *et al.*, (1961). A concentração de nitrogênio amoniacal foi determinada pelo método espectrofotométrico segundo Bergmeyer (1985).

Quanto a determinação do pH fecal, foram realizadas coletas de amostras de fezes durante os mesmos tempos de coletas de líquido ruminal; aproximadamente 500g/vaca de fezes frescas foram pesadas, diluídas em 50mL de água destilada e medida utilizando o medidor de pH portátil TEC-3P-MP (Tecnal®).

Quanto a determinação do pH urinário, foram realizadas coletas durante a micção estimulada por leve massagem vulvar em 8 tempos de coletas (6, 9, 12, 15, 18, 21, 00 e 03

horas após o fornecimento da alimentação matinal); aproximadamente 60 mL/ vaca de urina fresca foram submetidas a análise utilizando o medidor de pH portátil TEC-3P-MP (Tecnal®).

3.2.2. Análises estatísticas

Após a verificação da normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias, os resultados foram analisados pelo programa computacional *Statistical Analysis System*® (SAS, 2001). Com a distribuição normal dos dados, o procedimento estatístico adotado foi de acordo com os efeitos principais dos tratamentos, pelo comando Proc-MIXED, adotando-se nível de significância de 5%. Os dados de índice de seleção e comportamento alimentar foram analisados como variáveis independentes e os dados de metabolismo ruminal como medidas repetidas no tempo, considerando o efeito da hora de coleta da amostra. O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i (F1 + F2 + F1 \times F2) + Q_j + A_{(Q)k} + P_l + e_{ijkl},$$

Onde Y_{ijkl} = é o valor observado; μ = média geral; T_i = efeito fixo de tratamento i ($F1$ = Fator 1 – Tipo de processamento do milho; $F2$ = Fator 2 – Relação PDR/PNDR; $F1 \times F2$ = Interação entre os fatores $F1$ e $F2$); Q_j = efeito fixo do quadrado latino j , $j = 1$ a 5 ; $A_{(Q)k}$ = efeito aleatório do animal k dentro de cada quadrado latino, $k = 1$ a 20 ; P_l = efeito fixo do período l , $l = 1$ a 4 ; e_{ijkl} = erro aleatório associado a cada observação. Os graus de liberdade foram calculados de acordo com o método Satterthwaite ($DDFM = \text{Satterth}$).

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Comportamento alimentar

O tipo de processamento do milho e a associação entre o tipo de processamento do milho e a relação PDR:PNDR afetaram o comportamento alimentar das vacas. O tempo de alimentação em minutos (TAL, min/dia) teve efeito do tipo processamento do milho enquanto que, o tempo de alimentação por kg de MS ingerida (TAL/kg de MS consumida), de ruminação por kg de FND ingerido (TRU/ kg de FDN ingerido) e de ruminação por kg de MS consumida (TRU/ kg de MS consumida) tiveram efeito de interação entre o tipo processamento do milho e a relação PDR:PNDR (Tabela 2).

O TAL (min/dia) foi menor ($P = 0,009$) para vacas alimentadas com dieta contendo MF em relação as alimentadas com MM. Os menores TAL (/kg de MS ingerida) foram observados em vacas submetidas ao MF associado a alta PDR:PNDR (12,33) e ao MM associado a baixa PDR:PNDR (11,64) em comparação com as vacas submetidas ao MF associado a baixa PDR:PNDR (12,49) e ao MM associado a alta PDR:PNDR (12,66), ao passo que os maiores TRU (/kg de MS consumida) foram observados em vacas alimentadas com MF associado a alta PDR:PNDR (21,91) e em vacas alimentadas com MF associado a baixa PDR:PNDR (22,77) em comparação com as alimentadas com MM associado a alta PDR:PNDR (21,71) e com MM associado a baixa PDR:PNDR (19,60). Os maiores TRU (/kg de FDN consumido) foram observados em vacas submetidas ao MF associado a alta PDR:PNDR (2,76) e MF associado a baixa PDR:PNDR (2,74) em comparação com as vacas submetidas ao MM associado a alta PDR:PNDR ou a baixa PDR:PNDR (2,72).

Tabela 2. Efeito do processamento do milho, PM (floculado ou moído) e da relação PDR:PNDR sobre o comportamento alimentar de vacas leiteiras

Item	Floculado		Moído		EPM	<i>P_valor</i>		
	Alta PDR ¹	Baixa PDR ²	Alta PDR ¹	Baixa PDR ²		PM ³	PDR:PNDR ⁴	PM*Prot ⁵
TAL ⁶	283,24	283,29	295,63	297,50	7,20	0,009	0,85	0,85
TAL ⁷	12,33 ^{ab}	12,49 ^a	12,66 ^a	11,64 ^b	0,30	0,40	0,15	0,049
TRU ⁸	499,18	508,4	497	501,00	8,19	0,46	0,30	0,68
TRU ⁹	21,91 ^a	22,77 ^a	21,71 ^a	19,60 ^b	0,53	0,0004	0,16	0,0013
TRU ¹⁰	2,76 ^a	2,74 ^{ab}	2,72 ^b	2,72 ^{ab}	1,53	0,004	0,57	0,0019
TMT ¹¹	782,33	791,73	792,63	798,50	13,24	0,28	0,33	0,82
TAG ¹²	26,17	26,92	23,77	29,84	3,45	0,88	0,05	0,13
TOC ¹³	569,32	561,43	565,87	553,97	19,68	0,52	0,25	0,81
TO ¹⁴	41,25	37,03	41,18	42,73	2,30	0,13	0,47	0,13
TD ¹⁵	791,40	765,78	782,53	762,23	21,84	0,64	0,09	0,84
TP ¹⁶	563,38	592,74	574,91	589,83	22,06	0,75	0,10	0,59

¹Alta: 11% de PDR e 5,3% de PNDR – 67,5% de PDR com base na proteína bruta – PB; ²Baixa: 9,8% de PDR e 6,5% de PNDR – 60,1% de PDR com base na proteína bruta – PB; ³Tipo de processamento do milho; ⁴Relação PDR:PNDR; ⁵Efeito de interação entre o tipo de processamento do milho e a relação PDR:PNDR; ⁶TAL: tempo de alimentação (TAL, min/dia); ⁷TAL: tempo de alimentação (TAL/kg de MS ingerida); ⁸TRU: tempo de ruminação (TRU, min/dia); ⁹TRU: tempo de ruminação (TRU/ kg de MS ingerida); ¹⁰TRU: tempo de ruminação (TRU/kg de FDN consumido); ¹¹TMT: tempo de mastigação total (TMT, min/dia); ¹²TAG: tempo de ingestão de água (TAG, min/dia); ¹³TOC: tempo de ócio (TOC, min/dia); ¹⁴TO: tempo destinado a outras atividades (TO, min/dia); ¹⁵TD: tempo em posição deitada (TD, min/dia); ¹⁶TP: tempo em posição em pé (TP, min/dia)

3.3.2. Índice de seleção de partículas

Dos dois fatores analisados, apenas o tipo de processamento do milho ($P = 0,0009$) afetou o índice de seleção de partículas, para partículas longas ($> 19,0$ mm), em que vacas alimentadas com MF apresentaram menor rejeição de partículas longas em comparação com as alimentadas com MM (Tabela 3).

Tabela 3. Efeito do processamento do milho, PM (floculado ou moído) e da relação PDR:PNDR sobre o índice de seleção de partículas (consumidas em porcentagem das oferecidas na dieta) de vacas leiteiras

Índice de seleção	Floculado		Moído		EPM	<i>P_valor</i>		
	Alta PDR ¹	Baixa PDR ²	Alta PDR ¹	Baixa PDR ²		PM ³	PDR:PNDR ⁴	PM*Prot ⁵
$> 19,0$ mm (P1) ⁶	96,07	97,18	87,41	90,93	1,489	0,0009	0,278	0,570
19,0 a 8,0 mm (P2) ⁷	100,48	99,51	100,81	100,51	0,202	0,096	0,112	0,393
8,0 a 1,18 mm (P3) ⁸	100,75	100,57	100,78	100,53	0,159	0,988	0,384	0,908
$< 1,18$ mm (P4) ⁹	100,57	101,24	101,58	100,72	0,414	0,615	0,834	0,120

¹Alta: 11% de PDR e 5,3% de PNDR – 67,5% de PDR com base na proteína bruta – PB; ²Baixa: 9,8% de PDR e 6,5% de PNDR – 60,1% de PDR com base na proteína bruta – PB; ³Tipo de processamento do milho; ⁴Relação PDR:PNDR; ⁵Efeito de interação entre o tipo de processamento do milho e a relação PDR:PNDR; ⁶Partícula retida na peneira com abertura de 19 mm; ⁷Partícula retida na peneira com abertura de 8 mm; ⁸Partícula retida na peneira com abertura de 1,18 mm; ⁹Partícula retida da peneira sem abertura

3.3.3. Metabolismo ruminal

Para variável pH ruminal foi observado efeito isolado de tempo de coleta, em que às 08h00 foram observados os menores valores e às 20h00 os maiores valores (Figura 1A). Para a concentração de nitrogênio amoniacal, observou-se efeito de interação entre o tempo de coleta das amostras e a relação PDR:PNDR ($P = 0,0029$), em que vacas alimentadas com alta relação PDR:PNDR apresentaram às 10h00 os maiores valores em comparação com as alimentadas com baixa relação PDR:PNDR (Figura 1B). Para a relação acetato:propionato observou-se efeito isolado do PM ($P = 0,0005$), em que vacas alimentadas com MF apresentaram os menores valores em comparação com as alimentadas com MM; e também de tempo de coleta das amostras ($P < 0,0001$), em que às 08h00 foram observados os maiores valores e às 20h00 os menores valores (Figura 1C).

Figura 1. Efeito do processamento do milho, PM (floculado ou moído) e da relação PDR:PNDR sobre o pH ruminal, concentração de nitrogênio amoniacal e relação acetato:propionato de vacas leiteiras

Para concentração molar total dos AGCC foi observado apenas efeito isolado de tempo de coleta (horas) das amostras de líquido ruminal, em que às 08h00 foi observado os menores valores e às 20h00 os maiores valores (Figura 2).

Figura 2. Concentração molar total dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no fluido ruminal de vacas da raça Holandesa alimentadas com milho processado e proteína de diferentes degradabilidades ruminal

Observou-se efeito de interação entre tempo de coleta e a relação PDR:PNDR ($P = 0,038$) sobre a concentração ruminal (µmol/L) de ácido propiônico, na qual as vacas alimentadas com alta PDR:PNDR apresentaram às 08h00 os menores valores e às 00h00 os maiores valores em comparação com as alimentadas com a baixa relação PDR:PNDR (Figura 3A). Quanto à proporção molar (%) de ácido propiônico, houveram efeitos isolados de processamento do milho ($P = 0,0028$), em que vacas alimentadas com MM apresentaram os menores valores de concentração de ácido propiônico em comparação com as alimentadas com MF; e também de tempo de coleta das amostras ($P < 0,0001$), em que às 08h00 foram observados os menores valores e às 20h00 os maiores valores (Figura 4A).

Para concentração ruminal (µmol/L) de ácido acético, observou-se efeito isolado do tempo de coleta das amostras ($P < 0,0001$), em que os menores valores foram observados às 08h00 e os maiores valores foram observados às 20h00 (Figura 3B). Quanto à proporção molar (%) de ácido acético, houveram efeitos isolados de tipo de processamento do milho ($P = 0,030$) em que vacas alimentadas com MF apresentaram os menores valores em comparação com as alimentadas com MM; e também de tempo de coleta das amostras ($P < 0,0001$), em que às 14h00 foi observado o maior valor e às 20h00 o menor valor. (Figura 4B).

Para concentração ruminal ($\mu\text{mol/L}$) de ácido butírico, houve efeito isolado de tempo de coleta, em que às 08h00 foram observados os menores valores e às 20h00 os maiores valores (Figura 3C). Quanto à proporção molar (%) de ácido butírico, também houve efeito isolado de tempo de coleta, em que às 08h00 foram observados os maiores valores e as 00h00 os menores valores (Figura 4C).

Em relação à concentração ruminal ($\mu\text{mol/L}$) de ácido valérico, houveram efeitos isolados do tipo de processamento do milho ($P = 0,012$), em que vacas alimentadas com MF apresentaram os maiores valores em comparação com as alimentadas com MM; e também de tempo de coleta das amostras ($P < 0,0001$), em que às 08h00 foram observados os menores valores e as 20h00 os maiores valores (Figura 3D). Quanto à proporção molar (%) de ácido valérico, houveram efeitos isolados da relação PDR:PNDR ($P = 0,012$), em que vacas alimentadas com a alta relação PDR:PNDR apresentaram os menores valores em comparação com as alimentadas com a baixa relação PDR:PNDR; e também de tempo de coleta das amostras ($P < 0,0001$), em que às 08h00 foram observados os menores valores e as 20h00 os maiores valores (Figura 4D).

Para concentração ruminal ($\mu\text{mol/L}$) de ácido iso-butírico, houveram efeitos isolados da relação PDR:PNDR ($P = 0,004$), em que vacas alimentadas com a alta relação PDR:PNDR apresentaram os menores valores em comparação com as alimentadas com a baixa relação PDR:PNDR; e também de tempo de coleta das amostras ($P < 0,0001$), em que às 08h00 foram observados os maiores valores e às 20h00 foram observados os menores valores (Figura 3E). Quanto à proporção molar (%) de ácido iso-butírico, houveram efeitos isolados da relação PDR:PNDR ($P = 0,009$), em que vacas alimentadas com alta relação PDR:PNDR apresentaram os menores valores em comparação com as alimentadas com a baixa relação PDR:PNDR; e também de tempo de coleta das amostras ($P < 0,0001$), em que às 08h00 foram observados os maiores valores e às 20h00 foram observados os menores valores (Figura 4E).

Para concentração ruminal ($\mu\text{mol/L}$) de ácido iso-valérico, houveram efeitos isolados da relação PDR:PNDR ($P = 0,016$), em que vacas alimentadas com alta relação PDR:PNDR apresentaram os menores valores em comparação com as alimentadas com a baixa relação PDR:PNDR; e também de tempo de coleta das amostras ($P < 0,0001$), em que às 10h00 foram observados os maiores valores e às 18h00 foram observados os menores valores (Figura 3F). Quanto à proporção molar (%) de ácido iso-valérico, houve efeito de interação entre o tempo de coleta das amostras e o tipo de processamento do milho ($P = 0,024$), em que vacas alimentadas com MF apresentaram às 08h00 os maiores valores e às 18h00 os menores valores em comparação com as alimentadas com MM (Figura 4F).

Figura 3. Concentração ruminal ($\mu\text{mol/L}$) de ácido propiônico, acético, butírico, valérico, iso-valérico e iso-butírico no rúmen de vacas leiteiras alimentadas com diferentes tipos de processamento de milho e diferentes relações PDR: PNDR

Figura 4. Proporções molares (%) de ácido propiônico, acético, butírico, valérico, iso-valérico e iso-butírico no rúmen de vacas leiteiras alimentadas com diferentes tipos de processamento de milho e diferentes relações PDR: PNDR

Para variável pH fecal, observou-se efeito isolado do processamento do milho ($P = 0,001$), em que vacas alimentada com MF apresentaram os maiores valores em comparação com as alimentadas com MM; e também de tempo de coleta das amostras ($P < 0,0001$) em que às 08h00 foram observados os menores valores e às 00h00 os maiores valores (Figura 5).

Figura 5. Valor de pH fecal mensurado ao longo de 16 horas de coletas de vacas leiteiras alimentadas com dieta contendo milho floculado ou moído associados a alta ou baixa relação PDR:PNDR

Em relação ao pH urinário observou-se efeito isolado relação PDR:PNDR ($P = 0,005$), em que vacas alimentadas com alta relação PDR:PNDR apresentaram os maiores valores em comparação com as alimentadas com a baixa relação PDR:PNDR; e de tempo de coleta das amostras ($P < 0,001$), em que às 12h00 foram observados os menores valores e às 00h00 os maiores valores (Figura 6).

Figura 6. Valor do pH urinário mensurados a cada 3 horas ao longo de 24 horas de coletas urina de vacas leiteiras alimentadas com dieta contendo milho floculado ou moído associados a alta ou baixa relação PDR:PNDR

3.4. DISCUSSÃO

3.4.1. Comportamento alimentar

No presente estudo, foi observado efeito de interação entre o processamento do milho e a relação PDR:PNDR sobre o tempo de alimentação por kg de MS ingerida, tempo de ruminação por kg de MS ingerida e tempo de ruminação por kg de FDN consumido. Também foi observado efeito isolado do processamento do milho sobre o tempo de alimentação em minutos por dia e tendência da relação PDR:PNDR sobre a ingestão de água em minutos por dia.

O tempo de alimentação (TAL, min/dia) das vacas alimentadas com MF na dieta contendo milho floculado foi menor do que na dieta com milho moído e isso provavelmente ocorreu devido ao processamento do grão aumentar a quantidade de carboidratos prontamente fermentáveis no rúmen. Esse mecanismo de ação regulatória de consumo pode ser explicado pela teoria da oxidação hepática proposta por Allen *et al.* (2009), que associa produção de propionato proveniente da fermentação dos alimentos amido, o aumento do *status* energético hepático e a geração da sensação de saciedade para encerrar a refeição.

Segundo Beauchemin *et al.* (1994), foi descrita uma relação inversa entre o tempo de alimentação e o tempo de ruminação. Resultados similares foram observados no presente estudo, no qual observou-se maiores tempos de ruminação (TRU/ kg de MS ingerida e TRU/ kg de FDN consumido) nas dietas com MF em comparação com as dietas com MM, o que pode estar relacionado ao tamanho de partícula do alimento fornecido. Dietas com maior tamanho de partículas e alto teor de fibra apresentam menores eficiência de ruminação devido a maior dificuldade de redução do tamanho de partícula desses materiais (VAN SOEST *et al.*, 1994). Segundo Campos *et al.* (2006), a redução do tamanho de partícula por aumentar proporcionalmente a relação superfície: área, potencialmente aumenta a exposição do alimento à digestão microbiana, otimizando assim os processos fermentativos.

Quanto a tendência de maior ingestão de água no tratamento em que a relação PDR:PNDR foi baixa pode ter sido devido a presença de maior quantidade de proteína não degradável em comparação ao tratamento com alta relação PDR:PNDR. A proteína não degradável no rúmen reduz as perdas ruminais e intensificam a absorção de nitrogênio a nível intestinal. Esse é o princípio do processamento de grãos usados pela indústria animal que tem por objetivo de diminuir a degradabilidade ruminal da proteína e de reduzir as perdas ruminais na forma de amônia.

Vasconcelos *et al.* (2010), estudando os parâmetros ruminais e o balanço de nitrogênio em vacas leiteiras observaram que dietas com maiores níveis de proteína não-degradável no rúmen (PNDR) resultaram em maior volume urinário. De acordo com o NRC (2001), alimentos ricos em proteína frequentemente resultam em maior demanda de água, em virtude do aumento calórico da proteína e da eliminação de resíduos do metabolismo.

3.4.2. Seletividade ingestiva

No presente estudo, observou-se que as vacas alimentadas com milho moído apresentaram maior rejeição de partículas longas ($> 19,0$ mm), tendência de preferência para partículas intermediárias ($< 19,0$ e $> 8,0$ mm) e efeitos não significativos para os tamanhos de partículas curtas ($8,0$ a $1,18$ mm) ($P = 0,999$) e muito curtas ($< 1,18$ mm) ($P = 0,378$) entretanto, Savari *et al.* (2018), também utilizando a metodologia da *Penn State* para determinação do tamanho de partícula da dieta total observaram que a dieta contendo MF apresentou maior retenção de partículas intermediárias ($< 19,0$ e $> 8,0$ mm) e menor retenção de partículas muito curtas ($< 1,18$ mm) em relação a dieta com MM. O resultado obtido no presente estudo possivelmente ocorreu pela maior facilidade de separação e seleção do milho moído em relação ao floculado e o fato das partículas muito curtas terem tido efeito significativo o estudo de Savari *et al.* (2018) pode ter sido devido proporção mais elevada de farelo de soja na dieta com alta PDR:PNDR.

A facilidade de seleção e separação das partículas podem ser explicadas segundo Ribeiro *et al.* (2009), ao afirmarem que devido à menor granulometria do milho moído, o mesmo pode ser sedimentado e separado mais facilmente no cocho quando em mistura com partículas de maior tamanho, o que facilitaria a ingestão seletiva do concentrado.

Para Campos (2015), essa preferência alimentar por dietas contendo partículas de menor tamanho não afetam as características de desempenho produtivo e nem nos parâmetros ruminais dos animais. Com isso, a determinação do tamanho da partícula pela granulometria pode ser usada para verificar o hábito de seleção dos animais durante a alimentação sendo que tamanhos de partícula mais elevados induzem a seleção da dieta dos animais que acabam preferindo o consumo de dietas contendo partículas menores.

Esse comportamento de maior rejeição de partículas longas nas vacas alimentadas com milho moído pode ter influenciado no efeito não significativo do tipo de processamento sobre o pH ruminal. Contrariando o observado no presente estudo, Theurer (1986) descreve que o

fornecimento de grãos com alta degradabilidade ruminal, como é o caso do milho floculado, causa redução no pH ruminal de vacas leiteiras.

Entretanto, houve efeito do tipo de processamento do milho sobre o pH fecal, pois as vacas alimentadas com dieta com milho floculado apresentaram aumento do pH fecal durante todo o período de coleta das amostras em relação as alimentadas com milho moído. Este resultado pode estar associado ao aumento da quantidade de carboidratos prontamente fermentáveis do rúmen e intensificar o fluxo da digesta, de acordo com o maior processamento do milho.

O aumento do pH fecal associado a intensificação do fluxo da excreção estão de acordo com os resultados observados por Irelanperry e Stallings (1993) de que dietas que apresentam maior taxa de passagem induzem ao maior escape do amido no rúmen, esse amido ao não ser digerido no intestino delgado ou fermentado no intestino grosso é eliminado nas fezes e como consequência o processo de fermentação intestinal pode ser reduzido, resultado em maior pH fecal porém, em animais com fezes diarreicas esse resultado não pertinente pois Sato e Nakajima (2005) estudando a consistência das fezes de vacas leiteira observaram que independentemente da dieta ou do estágio fisiológico, o pH fecal foi significativamente maior nos animais que apresentaram fezes sem consistência.

Mathison (1996), explica que o processamento físico dos grãos geralmente aumenta a taxa e a extensão de fermentação do amido no rúmen com redução da quantidade de amido disponível para a digestão no intestino delgado. A quantidade de amido que chega ao intestino delgado é produto da interação de vários fatores, como a quantidade de dieta consumida, da fonte de amido, do tamanho de partículas, da taxa de digestão no rúmen e da taxa de passagem de líquidos e sólidos. O amido que escapa da digestão enzimática no intestino delgado pode ainda ser fermentado até ácidos graxos de cadeia curta no intestino grosso pelos microrganismos anaeróbicos, de forma semelhantes à fermentação ruminal ou ser eliminado nas fezes.

Quanto a variável pH urinário observou-se tendência do efeito da degradabilidade ruminal da proteína, em que vaca alimentadas com dieta contendo alta relação PDR:PNDR apresentaram os menores valores de pH urinário às 21h00 e as 03h00 em comparação as alimentadas com baixa relação PDR:PNDR. E essa flutuação pode tornar mais evidente a tentativa dos animais em compensarem a intensa atividade ruminal com o aumento da ingestão de água e a prolongada atividade de ruminação que aumenta o fluxo de saliva a qual contribui com o processo de alcalinização e tamponamento do meio e maior absorção dos AGCC.

3.4.3. Metabolismo ruminal

No presente estudo, foi observado efeito de processamento do milho sobre as concentrações ruminiais de ácido propiônico (μmol) e em proporção molar (%), concentração $\text{NH}_3\text{-H}$ e relação acetato/propionato. As vacas alimentadas com milho floculado tiveram maiores concentrações ruminiais de ácido propiônico (μmol) e em proporção molar (%), menor concentração de $\text{NH}_3\text{-H}$ e menor relação acetato/propionato. Por outro lado, a degradabilidade ruminal da proteína exerceu efeito sobre a proporção molar (%) de ácido iso-valérico em que vacas alimentadas com alta PDR:PNDR apresentaram os menores valores de ácido iso-valérico em relação as vacas alimentadas com baixa PDR:PNDR.

O pH ruminal não foi alterado pelo processamento do milho e/ou pela relação PDR:PNDR, entretanto o pH fecal foi maior em dietas com milho floculado em alta e baixa relação PDR:PNDR e o pH urinário foi reduzido às 21h00min em dietas com milho floculado e alta relação PDR:PNDR. Estes resultados indicaram que o pH fecal e urinário podem ter sido mais sensíveis do que o pH ruminal aos potenciais efeitos acidóticos de dietas com maior digestibilidade ruminal, como com milho floculado e/ou alta relação PDR:PNDR.

No presente estudo, a floculação do milho proporcionou maior digestibilidade do amido e a maior disponibilização de carboidratos prontamente fermentáveis, capazes de aumentar a concentração de propionato no rúmen.

Resultados semelhantes ao do presente estudo foram encontrados por Nussio *et al.* (2003), os quais observaram que a concentração molar de propionato foi maior em vacas alimentadas com milho floculado em comparação com as alimentadas com milho moído. Santos *et al.* (2001), avaliando o processamento do grão de milho sobre o desempenho e digestibilidade de vacas leiteiras, maior proporção molar de propionato nas dietas com milho floculado quando comparado ao milho moído; e por Joy *et al.* (1997) e Plascencia e Zinn (1996), os quais descreveram que fontes de amido de alta degradação ruminal geram maior produção de propionato. De acordo com Theurer *et al.* (1999), o consumo de grãos processados, como floculado ou laminado, altera o padrão de fermentação ruminal, o que resulta em maior produção de propionato e consequente maior produção de glicose através da gluconeogênese.

Lima *et al.* (2002), Menezes Jr (1999) e Plascencia e Zinn (1996) encontraram resultados semelhantes ao do presente estudo em que a utilização de milho floculado aumentou a concentração de ácido propionato no fluido ruminal. Lima *et al.* (2002), também

observou que o tipo processamento do milho reduziu a concentração de nitrogênio amoniacal e a relação acetato:propionato no fluido ruminal.

Quanto a proporção molar (%) do ácido iso-valérico, Leek (2006), relatou que a produção de isoácidos (iso-butírico e iso-valérico) é procedente da fermentação ruminal da proteína da dieta. A concentração de ácidos graxos de cadeia ramificada, como isovalérico e isobutírico, no líquido ruminal são indicativos de atividade fermentativa de aminoácidos (DIAS *et al.*, 2010). No presente estudo, foi observado que as menores proporções de ácido iso-valérico ocorreram na dieta com alta relação PDR:PDNR e isso pode estar relacionado com a degradabilidade ruminal da proteína e a intensa atividade microbiana sobre suprimento de nitrogênio presente no rúmen. Minson (1990), afirma que a disponibilidade dos compostos nitrogenados a nível ruminal está relacionada ao grau de degradabilidade ruminal da proteína.

Estudos prévios também relacionam a concentração de iso-valérico com a ocorrência de alta taxa de desaminação dos aminoácidos no rúmen (BARBOSA *et al.*, 2001; FELIX *et al.*, 1980). No presente estudo foi observado que vacas alimentadas com alta PDR:PDNR apresentaram, no líquido ruminal, as maiores concentrações de nitrogênio amoniacal e menores proporções molares (%) de ácido iso-valérico. Sendo assim, dietas com alta degradabilidade ruminal proporcionam maior aproveitamento do nitrogênio pela atividade microbiana no rúmen, maior retenção de nitrogênio para síntese de proteína microbiana e consequentemente as menores perdas urinárias deste elemento.

Quanto a concentração de nitrogênio amoniacal, resultados encontrados por Satter e Slyter (1974), Leng e Nolan (1984) e Russell *et al.* (1992), descrevem que a amônia ruminal é originada da degradação protéica da dieta, da hidrólise de fontes de nitrogênio não proteico, da ureia reciclada no rúmen e da lise da proteína microbiana. Observou-se no presente estudo que a dieta contendo milho floculado reduziu as concentrações de nitrogênio amoniacal no rúmen e isso ocorreu provavelmente devido à maior digestibilidade do amido do grão de milho floculado, que promove maior disponibilidade de energia para o metabolismo dos microrganismos ruminais. Esse fato resultou em uma maior concentração de ácido propiônico e maior eficiência de utilização do nitrogênio disponível no rúmen, sugerindo maior síntese de proteína microbiana e menor concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen.

3.5. CONCLUSÃO

O fornecimento do milho floculado reduziu a relação acetato:propionato, a concentração de ácido acético (%) e aumentou as concentrações dos ácidos valérico ($\mu\text{mol/L}$) e propiônico (%) e pH fecal em comparação com o milho moído. E quanto aos efeitos interação, observou-se que vacas alimentadas com milho floculado, apresentaram às 08h00 as maiores e às 20h00 as menores concentrações de ácido iso-valérico (%). Além disso, a relação PDR:PNDR afetou a concentração dos ácidos graxos de cadeia ramificada e o pH urinário, em que o consumo de dietas com alta relação PDR:PNDR reduziu as concentrações dos ácidos iso-butírico e iso-valérico e elevou o pH da excreta em comparação com o consumo de dietas com a baixa relação PDR:PNDR. Observou-se também que vacas com a alta relação PDR:PNDR, apresentaram às 08h00 as menores concentrações de ácido propiônico ($\mu\text{mol/L}$) e às 10h00 as maiores concentrações de N-NH_3 .

A utilização de milho floculado associado a alta relação PDR:PNDR e a utilização de milho moído associado a baixa relação PDR:PNDR reduziram os tempos de alimentação ($\text{TAL/ kg de MS ingerida}$) e de ruminação ($\text{TRU/ kg de MS ingerida}$). Já o uso de milho floculado associado a alta ou a baixa relação PDR:PNDR aumentaram o tempo de ruminação ($\text{TRU/ kg de FDN consumido}$). Quanto ao índice de seleção observou-se que a rejeição de partículas longas ($> 19,0 \text{ mm}$) foi menor em vacas alimentadas com milho floculado em relação às alimentadas com milho moído.

Sendo assim, o presente estudo nos permite inferir que vacas leiteiras em lactação submetidas a dieta contendo milho processado e proteína de diferentes degradabilidades ruminal apresentaram alteração de metabolismo ruminal, comportamento alimentar e seletividade ingestiva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, M. S; BRADFORD, B. J; OBA, M. Board-invited review: the hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 5, p. 3317 – 3334, 2009.

AMORIM, T. R. **Digestibilidade verdadeira e exigência de proteína para manutenção em tourinhos Red Norte**. 2013. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção de Ruminantes) - Universidade Federal de Lavras, p. 68, 2013.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. Arlington, VA.

BARBOSA, N. G. S; LANA, R. P. JHAM, G. N; BORGES, A. C; MÂNCIO, A. B; PEREIRA, J. C; OLIVEIRA, J. S. Consumo e fermentação ruminal de proteínas em função de suplementação alimentar energética e proteica em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, 2001.

BEAUCHEMIN, K. A; MCALLISTER, T. A; DONG, Y.; et al. Effects of mastication on digestion of whole cereal grains by cattle. **Journal of Animal Science**, v.72, n.2, p.236-246, 1994.

BERGMAYER, H. D. Methods of enzymatic analysis. Stasrch, v. 37, p. 33, 1985.

BÜRGER, P. J.; PEREIRA, J. C.; QUEIROZ, A. C.; SILVA, J. F. C.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P. R.; CASALI, A. D. P. Comportamento Ingestivo em Bezerros Holandeses Alimentados com Dietas Contendo Diferentes Níveis de Concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 236-242, 2000.

CAMPOS, A. F. **Efeito do tamanho de partícula na ensilabilidade e no valor nutritivo de silagens de cana-de-açúcar para bovinos de corte**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2015. 87 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2015.

CARMO, C. A; SANTOS, F. A. P. IMAIZUMI, H; PIRES, A. V; SCOTON, R. A. Substituição do farelo de soja por uréia ou amiréia para vacas em final de lactação. **Acta Scientiarum** v. 27, n.2, p. 277-286, 2005.

DIAS, A. M; ÍTAVO, L. C. V; DAMASCENO, J. C; SANTOS, G. T; NOGUEIRA, E; GOULARTE, S. R. Concentração de ácidos graxos voláteis no rúmen de vacas alimentadas com dietas contendo cana-de-açúcar tratada com hidróxido de cálcio. IN: REUNIÃO ANUAL DA SOCOEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47, Salvador, *Anais....*Salvador, UFBA: SBZ, 2010.

ERWIN, E. S; MARCO, G. J; EMERY, E. M. Volatile fatty acid analyzes of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v. 44, n. 9, p. 1768-1771, 1961.

FELIX, A; COOK, R. M; HUBER, J. T. Effect of feeding isoacids with urea on growth and nutrient utilization by lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 63, p. 1943-1946, 1980.
 HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, p. 253–267, 2001.

IRELAND-PERRY, R. L; STALLINGS, C. C. Fecal Consistency as Related to Dietary Composition in Lactating Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**. v. 76, n. 4, 1993.

JOY, M. T. et al. Effects of corn processing on the site and extent of digestion in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.9, p.2087-2097, 1997.

KONONOFF, P. J; HEINRICHS, A. J. The effect of reducing alfalfa haylage particle size on cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 1445 – 1457, 2003.

LAMMERS, B. P; BUCKMASTER, D. R; HEINRICHS, A. J. A Simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. **Journal of Dairy Science**, v.79, n.5, p.922-928, 1996.

LENG, R. A; NOLAN, J. V. Nitrogen-metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.67, n.5, p.1072-1089, 1984.

LEONARDI, C; ARMENTANO, L. E. Effect of quantity, quality and length of alfalfa hay on selective consumption by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 557 – 564, 2003.

LIMA, L. G; NUSSIO, L. G; GONÇALVES, J. R. S; SIMAS, J. M. C; VAZ PIRES, A; SANTOS, F. A. P. Fontes de amido e proteína para vacas leiteiras em dietas à base de capim elefante. **Science Agricultural**, v. 59, n. 1. 2002.

MATHISON, T. A. Effect of processing on the utilization of grain by cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 58, p. 113 - 125, 1996

MENEZES JÚNIOR, M. P. **Efeito do processamento do grão de milho e sua substituição parcial por polpa de citros peletizada sobre o desempenho, digestibilidade de nutrientes e parâmetros sanguíneos de vacas de leite**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 1999. 97p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 1999.

MERTENS, D. Nonstructural and structural carbohydrates. In: VAN HORN, H. H; C. J. WILCOX (Eds.). *Large Dairy Herd Management*. Am. Dairy Science Association, Champaign, IL, p. 219 – 235, 1992.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 6, p. 1217–1240, 2002.

MINSON, D. J. **Forage in ruminant nutrition**. San Diego: Academic Press, p. 483, 1990.

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

NOCEK, J. E; TAMMINGA, S. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effects on milk yield and composition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p 3598, 1991.

NUSSIO, C. M. B; SANTOS, F. A. P; ZOPOLLATO, M; VAZ PIRES, A; MORAIS, J. B; FERNANDES, J. J. R. Parâmetros de fermentação e medidas morfométricas dos compartimentos ruminais de bezerros leiteiros suplementados com milho processado (floculdo vs. laminado a vapor) e monensina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 4, p. 1021 - 1031, 2003.

PAES, M. C. D. Aspectos Físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. **Circular Técnica**, Embrapa Milho e Sorgo, 2006.

PERES, S. M. **Processamento de grãos de milho do tipo flint ou duro e adequação proteica em rações para bovinos em terminação – desempenho animal e digestibilidade do amido**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2011. 89p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 2011.

PLASCENCIA, A; ZINN, R. A. Influence of flake density on the feeding value of steam-processed corn in diets for lactating cows. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.74, n.2, p.310-316, 1996.

POLLI, V. A; RESTLE, J; SENNA, D. B; ALMEIDA, S. R. S. Aspectos relativos à ruminação de bovinos e bubalinos em regime de confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.5, p.987 – 993, 1996.

RIBEIRO, V. L; BATISTA, A. M. V; CARVALHO, F. F. R.; SILVA, M. J. M; MATTOS, C. W; ALVES, S. K. Seletividade e composição da dieta ingerida por caprinos recebendo alimentação à vontade e restrita. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.4, n.1, p.91 – 94, 2009.

ROONEY, L. W.; PFLUGFELDER, R. L. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. **Journal of animal science**, v. 63, n. 5, p. 1607–23, nov. 1986.

RUSSEL, J. B; O'CONNOR, J. D; FOX, D. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.2551-3561, 1992.

SANTOS F. A. P; MENDONÇA, A. P. Metabolismo de proteínas. In: **Nutrição de Ruminantes**, 2ª ed, Jaboticabal: Cap 9, p. 265-297, 2011.

SANTOS, F. A. P; MENEZES JÚNIOR, M. P; SIMAS, J. M. C; VAZ PIRES, A; NUSSIO, C. M. B. Processamento do grão de milho e sua substituição parcial por polpa de citros peletizada sobre o desempenho, digestibilidade de nutrientes e parâmetros sanguíneos em vacas leiteiras. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 923 - 931, 2001.

SATO, H; NAKAJIMA, J. Fecal ammonia, urea, volatile fatty acid and lactate levels in dairy cows and their pathophysiological significance during diarrhea. **Animal Science Journal**, v. 76, p. 595–599. 2005.

SATTER, L. D; SLYTER, L. L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial production in vitro. **British Journal Nutrition**, v.32, p.199-208, 1974.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS. Statistical analysis user's guide. Version 8.2. Cary, p. 1686, 2001.

SAVARI, M. KHORVASH, M; AMANLOU, H; GHORBANI, G. R; GHASEMI, E MIRZAEI, M. Effects of rumen-degradable protein: rumen-undegradable protein ration and corn processing on production performance, nitrogen efficiency, and feeding behavior of Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 2, p. 1 - 12, 2018.

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

THEURER, C.B. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1649-1662, 1986.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, p. 476p, 1994.

VAN SOEST, P. J, ROBERTSON, J. B, LEWIS, B. A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.

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 alimentada com soja e seus subprodutos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 2, 2010.

CAPÍTULO 4. EFEITO A CURTO PRAZO DA TROCA DA DIETA SOBRE O CONSUMO DE MATÉRIA SECA, PRODUÇÃO E ESTABILIDADE DO LEITE DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA

Short-term effect of dietary change on milk production and stability of Holstein dairy cows

RESUMO

O presente estudo foi realizado em dois experimentos cujo os objetivos foram: I) avaliar o efeito do tipo de processamento do milho associado à proteína de diferentes degradabilidades ruminal sobre o consumo de matéria seca, produção e estabilidade do leite durante o período de adaptação; II) avaliar a fonte de carboidrato não fibrosos associado a inclusão ou não de tamponante/ alcalinizante sobre o consumo de matéria seca, produção e estabilidade do leite durante o período de adaptação. No experimento 1 foram utilizadas 20 vacas da raça Holandesa com 162 ± 70 dias em lactação, peso corporal de 666 ± 68 kg e produção média de leite de $36 \pm 7,78$ kg/vaca/dia submetidas a quatro tratamentos organizados em arranjo fatorial 2×2 , sendo o fator 1 correspondente ao tipo de processamento do milho e o fator 2 à relação PDR:PNDR (alta: 67,5% de PDR e 32,5% de PNDR; baixa: 60% de PDR e 40% de PNDR em termos % de PB). Para avaliações de curto prazo, foram considerados apenas os tratamentos nos quais: 1) milho floculado mantido e associação à relação PDR:PNDR aumentada; 2) milho moído mantido e associação à relação PDR:PNDR aumentada; 3) substituição do milho floculado pelo moído e associação à alta relação PDR:PNDR; e 4) substituição do milho moído pelo floculado e associação à baixa relação PDR:PNDR. Foram coletadas amostras nos dias 0 (antes da troca da dieta) e nos dias 2, 5 e 14 (após a troca da dieta) (DTD). O milho moído associado à alta ou à baixa relação PDR:PNDR aumentou o CMS entretanto, o fornecimento de dieta contendo à alta relação PDR:PNDR associada ao milho moído ou floculado apresentaram redução na PL. O uso de milho floculado associado à alta relação PDR:PNDR aumentou o valor de pH das amostras de leite; em todos os tratamentos testados, a concentração de Cai apresentou redução. O uso de milho floculado associado ao aumento da relação PDR:PNDR causou redução na estabilidade alcoólica do leite, enquanto que o uso do milho moído associado a baixa relação PDR:PNDR aumentou a estabilidade do leite para esta variável. No experimento 2 foram utilizadas 16 vacas, com 130 ± 81 dias em lactação, peso corporal de 660 ± 62 kg e produção média de leite de $28,5 \pm 4,79$ kg/vaca/dia submetidas a quatro tratamentos organizados em arranjo fatorial 2×2 , sendo o fator 1 correspondente ao tipo de CNF principal da dieta (MM ou substituição parcial do MM por polpa cítrica - PC) e o fator 2 correspondentes ao uso de tamponante/ alcalinizante (tamp/alc) (bicarbonato de sódio associado à óxido de magnésio). Para as avaliações a curto prazo, foram considerados 1) substituição da polpa cítrica pelo milho moído associado à inclusão de tamp/alc; 2) substituição da polpa cítrica pelo milho moído associado à não inclusão de tamp/alc; 3) polpa cítrica mantida e associada à substituição da não inclusão pela inclusão de tamp/alc; 4) milho moído mantido e associado à substituição da não inclusão pela inclusão de tamp/alc. O CMS foi a única variável que apresentou efeito da dieta, em que o uso de milho moído sem a inclusão de tamp/alc aumentou o CMS. Sendo assim, durante o período de adaptação, o efeito a curto prazo de troca foi mais nítido nas dietas contendo milho processado associado à proteínas de diferentes degradabilidades ruminal do que nas dietas contendo fontes de carboidratos não fibrosos associados à inclusão ou não de tamp/alc.

Palavras-chaves: Adaptação. Alimentação. Leiteiras. Mudanças

ABSTRACT

The present study was carried out in two experiments whose objectives were: I) to evaluate the effect of the corn processing type associated with the protein of different ruminal degradability on the dry matter intake, milk production and stability during the adaptation period. Indeed II) to evaluate the non-fibrous carbohydrate source associated to the inclusion or not of buffering / alkalizing on dry matter intake, milk production and stability during the adaptation period. In the experiment 1, 20 Holstein cows with 162 ± 70 DIM, body weight of 666 ± 68 kg and mean milk yield of 36 ± 7.78 kg / cow / day were submitted to four treatments organized in factorial arrangement 2×2 . The factor 1 corresponde to the type of corn processing and factor 2 to the ratio RDP:RUP (high: 67.5% RDP and 32.5% RUP, low: 60% RDP and 40% RUP in% CB terms). For short-term evaluations, only those treatments were considered: 1) maintained flocculated corn and association with the RDP: increased RUP ratio; 2) ground corn maintained and association to increase of RDP:RUP ratio; 3) substitution of flocculated corn for the ground corn and association with high ratio RDP:RUP and 4) replacement of ground corn by flocculated corn and association with low RDP:RUP ratio. Samples were collected on days 0 (before day change) and days 2, 5 and 14 (after diet change) (DTD). Ground corn associated with high or low RDP:RUP ratios increased intake DM; however, the diet containing the high RDP:RUP ratio associated to ground corn or flocculated corn showed a decrease in milk yield. The use of flocculated corn associated with high RDP:RUP ratio increased the pH value of milk samples; and in all tested treatments, the concentration of Cai presented reduction. The use of flocculated corn associated with the increase of the RDP:RUP ratio caused a decrease in the milk alcoholic stability while the use of ground corn associated with a low RDP:RUP ratio increased this variable. In the experiment 2, sixteen Holstein cows were used, with 130 ± 81 DIM, body weight of 660 ± 62 kg and average milk yield of 28.5 ± 4.79 kg / cow / day submitted to four treatments organized in factorial arrangement 2×2 . The factor 1 corresponde to the main NFC type of the diet (GC or partial replacement of GC by citrus pulp - CP) and factor 2 corresponde to the use of buffer / alkaline (sodium bicarbonate magnesium oxide). For the short term evaluations were evaluated the 1) replacement of the citrus pulp by ground corn associated with inclusion of buffer / alk; 2) replacement of citrus pulp by ground corn associated with non-inclusion of buffer / alk; 3) citrus pulp maintained and associated with non-inclusion substitution by inclusion of buffer / alk and 4) ground corn maintained and associated with non-inclusion substitution by inclusion of buffer / alc. The intake DM was the only variable that presented a dietary effect, in which the use of ground corn without the inclusion of buffer / alk increased intake DM. Thus, during the adaptation period, the short-term effect of exchange was more pronounced in diets containing processed corn associated with proteins of different ruminal degradability than in diets containing sources of non-fibrous carbohydrates associated with the inclusion of buffer / alk.

Keywords: Adaptation. Food. Dairy products. Change.

4.1. INTRODUÇÃO

A redução da estabilidade térmica do leite é um problema frequentemente encontrado nas regiões Sudeste e Sul do Brasil (MARQUES *et al.*, 2007; MARX *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2011; ZANELA *et al.*, 2009) e se configura como um fator limitante do tratamento térmico necessário para a produção de leite longa vida. O leite instável não ácido (LINA), apresenta acidez Dornic normal (14 a 18°D) e valor de pH dentro da faixa de normalidade (6,4 a 6,8) entretanto com teores mais altos de cálcio iônico (Cai) (BARBOSA *et al.*, 2007) e perda da estabilidade da caseína à prova do álcool. As causas do LINA ainda não estão totalmente esclarecidas, embora as prováveis causas estejam relacionadas à deficiência de nutrientes (STUMPF *et al.*, 2013), a acidose ruminal (PONCE e HERNANDES, 2005) e metabólica (MARTINS *et al.*, 2015), o desbalanço de proteína e energia e às trocas abruptas de dietas (SCHMIDT *et al.*, 2014).

Os principais fatores que afetam a estabilidade do leite podem ser intrínsecos ao animal (relacionados ao estado fisiológico e estágio de lactação, ocorrência de mastite) e extrínsecos (relacionados as condições ambientais e de manejo). O estágio de lactação pode afetar a estabilidade do leite devido as alterações de concentração de proteínas (fase inicial), proporção entre cátions e ânions e equilíbrio salino. Vacas no início da lactação apresentam estabilidade térmica reduzida, assim como aquelas em estágio lactacional avançado, mesmo que sejam bem alimentadas e não apresentem mastite (MARQUES *et al.*, 2010, TSILOULPAS *et al.*, 2007; LEWIS, 2011). Além do estágio de lactação, alterações digestivas e/ou metabólicas foram relacionadas à diminuição da estabilidade do leite, possivelmente, devido à acidose metabólica induzida pela acidose ruminal (PONCE e HERNANDES, 2005) ou pela adição de sais aniônicos à dieta durante a lactação (redução do pH e aumento do Cai) (MARQUES *et al.*, 2011).

Dentre os fatores extrínsecos, a nutrição das vacas pode alterar a estabilidade do leite, de acordo com a qualidade da dieta ofertada, da disponibilidade de nutrientes, degradabilidade dos nutrientes e inclusão de aditivos para controle da acidez ruminal. No entanto, ainda não foi determinado o efeito de curto prazo de mudanças da dieta em relação ao tipo de processamento do milho, a relação PDR:PNDR e a inclusão de tamponantes/alcalinizantes (tamp/alc) sobre o desempenho e a estabilidade do leite de vacas em lactação.

Sendo assim, as hipóteses do presente estudo foram de que a produção e a estabilidade do leite (avaliada pela concentração de Cai, pH, estabilidade alcoólica e térmica) são afetadas pelo tipo de processamento do milho e a relação PDR:PNDR e também pela fonte de

carboidrato não fibroso (CNF) e a inclusão ou não de tamp/alc na dieta. Para testar estas hipóteses, o presente estudo teve por objetivos com o experimento 1 avaliar o efeito a curto prazo da troca da dieta contendo milho moído ou milho floculado e alta ou baixa relação PDR:PNDR sobre o consumo de matéria seca, produção e estabilidade do leite durante o período de adaptação; e com o experimento 2 avaliar o efeito a curto prazo da troca da dieta contendo milho moído ou polpa cítrica e inclusão ou não de tamp/alc sobre o consumo de matéria seca, produção e estabilidade do leite durante o período de adaptação.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais aplicados nesta pesquisa obedeceram aos princípios éticos na experimentação animal bem como as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) e protocolada sob o CEUA nº 9571150916. O presente estudo foi dividido em dois experimentos, descritos a seguir:

EXPERIMENTO 1: TIPO DE PROCESSAMENTO DO MILHO E DEGRADABILIDADE DA PROTEÍNA DIETÉTICA SOBRE O CONSUMO DE MATÉRIA SECA, PRODUÇÃO E ESTABILIDADE DO LEITE DURANTE O PERÍODO DE ADAPTAÇÃO

4.2.1. Seleção dos animais e descrição de tratamentos

O experimento foi realizado no período de junho a setembro de 2015 e conduzido no Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite (LPBL) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/ USP, Campus Fernando Costa - Pirassununga). Foram utilizadas vinte vacas da raça Holandesa, com 162 ± 70 dias em lactação (DEL), peso corporal de 666 ± 68 kg, escore de condição corporal (ECC) médio de $3,15 \pm 0,48$ e produção média de leite de $36,0 \pm 7,78$ kg de leite/vaca/dia; sendo oito delas portadoras de fístula ruminal. As vacas foram distribuídas com blocos casualizados sendo 3 vacas sem fístula e 2 vacas com fístula ruminal em cada quadrado.

O delineamento experimental adotado foi o quadrado latino 4×4 , com 4 quadrados contemporâneos, 4 tratamentos e 4 períodos de 14 dias destinados a coleta de dados e

amostras. Os tratamentos foram distribuídos em um arranjo fatorial 2×2 , no qual o fator 1 correspondeu ao tipo de processamento do milho, moído em peneira 2mm (MM) ou floculado (MF); e o fator 2 correspondeu à relação PDR:PNDR (alta: 67,5% de PDR e 32,5% de PNDR; baixa: 60% de PDR e 40% de PNDR, em termos % de PB).

Segundo o critério de explicação biológica coerente para mudanças ocorridas a curto prazo, das doze combinações possíveis (substituição do milho floculado pelo moído associado a redução da relação PDR:PNDR; substituição do milho moído pelo floculado associado a redução da relação PDR:PNDR; milho floculado mantido associado a redução da relação PDR:PNDR; milho moído mantido associado a redução da relação PDR:PNDR; substituição do milho floculado pelo moído associado ao aumento da relação PDR:PNDR; substituição do milho moído pelo floculado associado ao aumento da relação PDR:PNDR; milho floculado mantido associado ao aumento da relação PDR:PNDR; milho moído mantido associado ao aumento da relação PDR:PNDR; substituição do milho floculado pelo moído associado a relação PDR:PNDR mantida alta e substituição do milho floculado pelo moído associado a relação PDR:PNDR mantida baixa); para as substituições antes e após o dia da troca da dieta (**DTD**) foram selecionados: 1) milho floculado mantido associado ao aumento da relação PDR:PNDR; 2) milho moído mantido associado ao aumento da relação PDR:PNDR; 3) substituição do milho floculado pelo moído associado a relação PDR:PNDR mantida alta e 4) substituição do milho floculado pelo moído associado a relação PDR:PNDR mantida baixa.

As vacas foram alojadas em baias individuais em sistema do tipo *freestall* e o fornecimento de alimentos foi realizado duas vezes ao dia, às 07h00 e às 13h00, com ajuste diário do consumo, de modo a permitir 5 a 10% de sobras. O acesso à dieta e à água foi *ad libitum* e o volumoso e o concentrado foram misturados manualmente na forma de dieta completa. As dietas fornecidas às vacas foram formuladas com base em silagem de milho como volumoso, farelo de soja, farelo de soja extrusada (SoyPass®, Cargill, Brasil), ureia, grão de soja cru integral, PC, MM, MF e suplemento mineral e vitamínico (Tabela 1).

4.2.2. Amostragem das dietas experimentais

Diariamente foram feitas pesagens das quantidades dos volumosos e concentrados fornecidos e das sobras de cada tratamento para estimativa do CMS. Durante 4 dias do período foram coletadas amostras dos alimentos fornecidos, e armazenadas a -20°C , de modo a compor uma amostra composta por animal de cada período para cada variável.

As amostras de alimentos foram descongeladas a temperatura ambiente, e pré-secas à 65° C em estufa com ventilação forçada, até atingirem peso constante, por no mínimo 72 horas de secagem. Após a secagem, as amostras foram moídas em moinho de facas tipo Willey (Marconi® - MOD - 0,48), com o uso de peneiras de crivo 1 mm para posteriores análises de composição química. Para as amostras de alimentos foram determinados os teores de matéria seca (MS; método 930.15; AOAC, 2000), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM método 942.05; AOAC, 2000), extrato etéreo (EE; método 920.39; AOAC, 2000), proteína bruta (PB; $N \times 6,25$; método 984.13; AOAC, 2000); fibra em detergente neutro (FDN), utilizando α -amilase e sem adição de sulfito de sódio ao detergente, e fibra em detergente ácido (FDA), determinados de acordo com (MERTENS, 2002). Adicionalmente, nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e lignina em detergente ácido (LDA) foram determinados conforme Van Soest *et al.* (1991).

4.2.3. Coletas de leite e análises de estabilidade

Para determinação da produção de leite diária utilizou-se o medidor eletrônico de fluxo (DeLaval®) da ordenha mecânica e os resultados foram anotados em planilhas individuais. As amostras de leite foram coletadas em duplicata com auxílio de copo coletor nos 2º, 5º, 14º e 15º DTD, sendo o 15º dia de troca da dieta correspondente ao dia 0 do período seguinte, e armazenadas em tubos plásticos. Com amostras frescas de leite foi determinada a concentração de Caie pH do leite. O Cai das amostras de leite foi mensurado através do potenciômetro com eletrodo seletivo (Thermo®) (BARROS, 2001) e as análises de pH do leite foram realizadas utilizando um pHmêtro portátil (Tecnal®).

A outra parte das amostras de leite foram armazenadas por 12 horas, refrigeradas a 6° C e destampadas para ocorrer à liberação do dióxido de carbono dissolvido, e logo após foi determinada a estabilidade do leite ao etanol e ao aquecimento térmico à 140° C. A estabilidade do leite ao etanol foi feita pela prova do álcool (mistura de quantidades equivalentes de leite e álcool) nas seguintes graduações: 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82 e 84% de etanol na solução. Foram homogeneizados em placa de Petri 2 mL de leite e 2 mL de solução alcoólica por alguns segundos e realizada avaliação visual da presença ou não de coágulos. O resultado foi apresentado como nível de instabilidade (ou precipitação), correspondente ao menor nível de álcool no qual a precipitação ocorreu (MARQUES *et al.*, 2011; ZANELA *et al.*, 2006).

Para avaliar a estabilidade do leite ao aquecimento térmico à 140° C, foi utilizada a metodologia de tempo de coagulação (TC), de acordo com Negri *et al.*, (2003). As amostras de leite foram inseridas em capilares de vidro (7 cm de comprimento, 0,15 cm de diâmetro externo e 0,1 cm de diâmetro interno) fechados hermeticamente com calor e submetidos à imersão em glicerina para aquecimento a 140° C. O TC foi registrado em minutos desde a introdução dos capilares no banho com glicerina até o aparecimento dos primeiros sinais de coagulação (NEGRI *et al.*, 2003).

4.2.4. Análises estatísticas

Os resultados foram analisados pelo programa computacional Statistical Analysis System® (SAS, 2001), após verificação da normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. Com a distribuição normal dos dados, o procedimento estatístico adotado foi de acordo com os efeitos principais dos tratamentos pelo comando Proc-MIXED adotando-se nível de significância de 0,05, de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i (F1 + F2 + F1 \times F2) + Dj + Dj \times F1 + Dj \times F2 + Dj \times F1 \times F2 + Q_j + A_{(Q)k} + P_l + e_{ijkl},$$

Onde Y_{ijkl} = é o valor observado; μ = média geral; T_i = efeito fixo de tratamento i ($F1$ = Fator 1 correspondente ao tipo de processamento do milho; $F2$ = Fator 2 correspondente à relação PDR:PNDR; $F1 \times F2$ = interação entre os fatores $F1$ e $F2$; Dj = efeito fixo do dia após troca das dietas; $Dj \times F1$ = interação entre Dj e $F1$; $Dj \times F2$ = interação entre Dj e $F2$; $Dj \times F1 \times F2$ = interação tripla entre Dj , $F1$ e $F2$; Q_j = efeito fixo do quadrado j , $j = 1$ a 5 ; $A_{(Q)k}$ = efeito aleatório do animal k dentro de cada quadrado, $k = 1$ a 20 ; P_l = efeito fixo do período l , $l = 1$ a 4 ; e_{ijkl} = erro aleatório associado a cada observação. Os dias após a troca das dietas foram incluídos no modelo como medidas repetidas no tempo. O critério de escolha das estruturas de erros foi de acordo com o Critério de Informação Bayesiano (BIC). Os graus de liberdade foram calculados de acordo com o método Satterthwaite (DDFM = Satterth).

EXPERIMENTO 2: FONTE DE CNF E INCLUSÃO OU NÃO DE TAMPONANTE/ALCALINIZANTE SOBRE CONSUMO DE MATÉRIA SECA, PRODUÇÃO E ESTABILIDADE DO LEITE DE DURANTE O PERÍODO DE ADAPTAÇÃO

4.2.5. Seleção dos animais e descrição dos tratamentos

O período experimental foi de setembro a dezembro de 2016 no Setor de Bovinocultura de Leite da Prefeitura do Campus Administrativo da Universidade de São Paulo em Pirassununga (PCAPS). Foram utilizadas 16 vacas da raça Holandesa em lactação com 130 ± 81 DEL, peso corporal de 600 ± 62 kg e produção média de leite de $28,5 \pm 4,79$ L/dia.

O delineamento experimental adotado foi o quadrado latino 4×4 , com 4 quadrados contemporâneos, 4 tratamentos e 4 períodos de 14 dias destinados a coleta de dados e amostras. Os tratamentos foram arranjos em fatorial 2×2 , no qual o fator 1 correspondeu a fonte de carboidrato não fibroso (MM ou polpa cítrica) e o fator 2 correspondeu ao uso de tamponante/alcalinizante (tamp/alc) (com ou sem inclusão).

Novamente, segundo o critério de explicação biológica coerente para mudanças ocorridas a curto prazo, das doze combinações possíveis (MM substituído parcialmente por PC associada a substituição da não inclusão de tamp/alc pela inclusão de tamp/alc; MM substituído parcialmente por PC associada a substituição da inclusão de tamp/alc pela não inclusão de tamp/alc; MM substituído parcialmente por PC associada a inclusão de tamp/alc mantida; MM substituído parcialmente por PC associada a não inclusão de tamp/alc mantida; PC substituída por MM associada a substituição da não inclusão de tamp/alc pela inclusão de tamp/alc; PC substituída por MM associada a substituição da inclusão de tamp/alc pela não inclusão de tamp/alc; PC substituída por MM associada a inclusão de tamp/alc mantida; PC substituída por MM associada a não inclusão de tamp/alc mantida; PC mantida associada a substituição da não inclusão de tamp/alc pela inclusão de tamp/alc; PC mantida associada a substituição da inclusão de tamp/alc pela não inclusão de tamp/alc; MM mantido associado a substituição da não inclusão de tamp/alc pela inclusão de tamp/alc e MM mantido associado a substituição da inclusão de tamp/alc pela não inclusão de tamp/alc); para as substituições antes e após o dia da troca da dieta (DTD) apenas os seguintes tratamentos foram considerados: 1) PC substituída por MM associada a não inclusão de tamp/alc mantida; 2) PC mantida associada a substituição da não inclusão de tamp/alc pela inclusão de tamp/alc; 3) PC

mantida associada a substituição da inclusão de tamp/alc pela não inclusão de tamp/alc e 4) MM mantido associado a substituição da não inclusão de tamp/alc pela inclusão de tamp/alc.

As dietas foram formuladas a base de farelo de soja, ureia, calcário calcítico, bicarbonato de sódio, sal comum, óxido de magnésio e suplemento mineral e vitamínico (Tabela 4).

Tabela 4. Proporção dos ingredientes e composição bromatológica das dietas para vacas leiteiras da raça Holandesa

Ingredientes, (g/kg de MS)	Com polpa ¹		Sem polpa ²	
	Com tamp/alc ³	Sem tamp/alc	Com tamp/alc	Sem tamp/alc
Silagem de milho	0,4001	0,4001	0,4001	0,4001
Molho moído	0,2687	0,2743	0,4074	0,4168
Polpa Cítrica	0,1338	0,1385	0	0
Farelo de soja	0,1602	0,1593	0,1489	0,1489
Ureia	0,007	0,007	0,0078	0,0078
Calcário calcítico	0	0	0,0057	0,0057
Bicarbonato Na	0,0071	0	0,0071	0
Sal comum	0,0042	0,0042	0,0042	0,0042
Óxido de Mg	0,0024	0	0,0024	0
Suplemento Mineral- Vitamínico ⁴	0,0165	0,0165	0,0165	0,0165
PB	0,01649	0,01653	0,01661	0,0167
FDN	0,03038	0,03063	0,02675	0,02688
FDA	0,02116	0,02131	0,01767	0,01771
NIDN	0,00041	0,00041	0,00039	0,00039
NIDA	0,00033	0,00034	0,0003	0,0003
EE	0,00312	0,00316	0,00343	0,00347
MM	0,0043	0,00434	0,00346	0,00347
Lignina	0,00249	0,0025	0,00243	0,00244
CNF	0,04365	0,04453	0,04758	0,04825

¹Dieta com adição de polpa cítrica; ²Dieta sem adição de polpa cítrica; ³Bicarbonato de sódio associado ao óxido de magnésio; ⁴Suplementomineral mixture composition per kilogram: 242 g of Ca [minimum (min)], 30 mg of Co (min), 1,008 mg of Cu (min), 80 g of S (min), 390 mg of Fl (max), 39 g of P (min), 60 mg of I (min), 20 g of Mg (min), 2,998 mg of Mn (min), 1,100 mg of monensin sodium (min), 30 mg of Se (min), 4,032 mg of Zn (min), 400,000 IU of vitamin A (min), 40,000 IU of vitamin D3 (min), and 1,450 IU of vitamin E (min).

4.2.6. Amostragem das dietas experimentais e Coletas de leite e análises de estabilidade

Os procedimentos de coleta das amostras e análises laboratoriais foram realizados de maneira semelhantes aos descritos para o experimento 1.

4.2.7. Análises estatísticas

Os resultados foram analisados pelo programa computacional *Statistical Analysis System*[®] (SAS, 2001), após verificação da normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. Com a distribuição normal dos dados, o procedimento estatístico adotado foi de acordo com os efeitos principais dos tratamentos, pelo comando Proc-MIXED e nível de significância de 0,05, de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i (F1 + F2 + F1 \times F2) + Dj + Dj \times F1 + Dj \times F2 + Dj \times F1 \times F2 + Q_j + A_{(Q)k} + P_l + e_{ijkl},$$

Onde Y_{ijkl} = é o valor observado; μ = média geral; T_i = efeito fixo de tratamento i ($F1$ = Fator 1 correspondente a substituição parcial do MM por PC; $F2$ = Fator 2 correspondente a utilização ou não de TA; $F1 \times F2$ = interação entre os fatores $F1$ e $F2$; Dj = efeito fixo do dia após troca das dietas; $Dj \times F1$ = interação entre Dj e $F1$; $Dj \times F2$ = interação entre Dj e $F2$; $Dj \times F1 \times F2$ = interação tripla entre Dj , $F1$ e $F2$; Q_j = efeito fixo do quadrado j , $j = 1$ a 5 ; $A_{(Q)k}$ = efeito aleatório do animal k dentro de cada quadrado, $k = 1$ a 20 ; P_l = efeito fixo do período l , $l = 1$ a 4 ; e_{ijkl} = erro aleatório associado a cada observação. Os dias após troca de dietas foram incluídos no modelo como medidas repetidas no tempo. O critério de escolha das estruturas de erros foi de acordo com o Critério de Informação Bayesiano (BIC). Os graus de liberdade foram calculados de acordo com o método Satterthwaite (DDFM = Satterth).

4.3. RESULTADOS

EXPERIMENTO 1: TIPO DE PROCESSAMENTO DO MILHO E DEGRADABILIDADE DA PROTEÍNA DIETÉTICA SOBRE O CONSUMO DE MATÉRIA SECA, PRODUÇÃO E ESTABILIDADE DO LEITE DURANTE O PERÍODO DE ADAPTAÇÃO

Durante o período de adaptação foi observado efeito de interação entre a degradabilidade ruminal da proteína e o tipo de processamento do milho ($P = 0,0042$) sobre o consumo de matéria seca. Já para variável produção de leite, houveram efeitos de interação entre o tipo de processamento do milho e a relação PDR:PNDR ($P = 0,0148$), dia de troca da dieta e relação PDR:PNDR ($P = 0,0022$) e entre o dia de troca da dieta e o tipo de processamento do milho ($P = 0,0206$). Foi observado efeito de interação tripla entre o dia de

troca da dieta, a relação PDR:PNDR e o tipo de processamento do milho para as variáveis pH ($P = 0,0096$), concentração de cálcio iônico ($P = 0,0015$) e estabilidade alcoólica ($P = 0,0007$), respectivamente. Para a estabilidade térmica, foi observado efeito isolado de dia de troca da dieta ($P = 0,0038$) (Tabela 5).

Tabela 5. Valores de P referentes ao efeito do processamento do milho (floculado ou moído) e da degradabilidade ruminal da proteína sobre o consumo de matéria seca, produção de leite, pH, concentração de cálcio iônico, estabilidade alcoólica e térmica do leite de vacas leiteiras alimentadas durante o período de adaptação experimental

Item	P - valor					
	CMS	PL	pH	Cai	Estabilidade alcoólica	Estabilidade térmica
PDR:PNDR ¹	0,0417	0,4495	0,5977	0,163	0,5779	0,8821
PM ²	0,016	0,7923	0,3445	0,2448	0,3511	0,51
PDR:PNDR* PM	0,0042	0,0148	-	-	-	-
DIA ³	0,1224	0,0005	0,0004	<0,0001	0,122	0,0038
DIA*PDR:PNDR	0,3745	0,0022	0,0957	0,3802	0,796	0,7222
DIA* PM	0,0613	0,0206	0,0536	0,6266	0,9755	0,4886
DIA*PDR:PNDR* PM	0,4929	0,2251	0,0096	0,0015	0,0007	0,4608

¹Teor de PDR:PNDR contido na dieta: alta relação correspondeu 67,5% de PDR e 32,5% de PNDR e a baixa relação correspondeu a 60% de PDR e 40%, em termos de % PB; ²PM = tipo de processamento do milho; ³Dia de troca da dieta; ⁴CMS= consumo de matéria seca; ⁵PL = produção de leite; ⁶Cai = cálcio iônico; ⁷TC = tempo de coagulação a 140°C.

4.3.1. Consumo de matéria seca (CMS)

No tratamento contendo milho moído ao invés do floculado associado a alta relação PDR:PNDR, observou-se aumento de 20% no CMS de acordo com os dias de troca das dietas ao longo do período de adaptação. Quando os animais receberam dieta de milho moído ao invés do floculado associado a baixa relação PDR:PNDR, foi observado aumento de 27,5% no CMS no decorrer do período de adaptação (Tabela 6).

4.3.2. Produção de leite (PL)

Para as vacas submetidas ao tratamento com milho floculado mantido associado ao aumento da relação PDR:PNDR, apresentaram redução na produção de leite entre o 2º e 5º DTD em que no 2º DTD observou-se o maior valor (33,73) e no 5º DTD o menor valor (31,39). O mesmo aconteceu para vacas submetidas ao tratamento com milho moído associado ao aumento da relação PDR:PNDR, em que no 2º DTD observou-se maior valor (36,32) e no 14º DTD o menor valor (33,50). Vacas que receberam dieta de milho moído ao

invés de floculado associado a alta relação PDR:PNDR também tiveram sua produção de leite reduzida em que no dia 0 antes da troca da dieta, observou-se o maior valor (36,48) e no 14º DTD a menor valor (31,33) (Tabela 6).

4.3.3. pH

Para variável pH, foi observado que vacas submetidas ao tratamento contendo o milho floculado associado a redução da relação PDR:PNDR apresentaram no 2º DTD o menor valor (6,68) e no 14º DTD o maior valor (6,81) (Tabela 6).

4.3.4. Cálcio iônico (Cai)

Observou-se que vacas submetidas ao tratamento com milho floculado mantido associado ao aumento da relação PDR:PNDR, apresentaram redução na concentração de Cai em que no 2º DTD foi observou o maior valor (184,1) e no 5º DTD o menor valor (122,23). Para vacas alimentadas milho moído associado ao aumento da relação PDR:PNDR, observou-se no dia 0 antes da troca da dieta o maior valor (147,3) e no 14º DTD o menor valor (117,5). Para vacas que receberam dieta de milho moído ao invés de floculado associado a alta relação PDR:PNDR observou-se no 2º DTD o maior valor (149,82) e no 5º DTD o menor valor (115,82). Já para vacas que receberam dieta de milho moído ao invés de floculado associado a baixa relação PDR:PNDR observou-se no dia 0 antes da troca da dieta o maior valor (144,24) e no 2º DTD o menor valor (109,64) (Tabela 6).

4.3.5. Estabilidade do leite

Vacas submetidas ao tratamento contendo milho floculado associado ao aumento da relação PDR:PNDR apresentaram redução na estabilidade alcoólica do leite, em que no dia 0 antes da troca da dieta observou-se o maior valor (76,35) e no 2º DTD o menor valor (72,35). Já para vacas que receberam dieta de milho moído ao invés de floculado associado a baixa relação PDR:PNDR houve aumento na estabilidade alcoólica em que, no dia 0 antes da troca da dieta observou-se o menor valor (72,53) e no 5º DTD o maior valor (79,33) (Tabela 6).

Para o tempo de coagulação (TG) não houve efeito de tratamento ou de interação entre os tratamentos com para a variável estudada (Tabela 6).

Tabela 6. Efeito do processamento do milho (floculado ou moído) e da degradabilidade ruminal da proteína sobre o consumo de matéria seca, produção de leite, pH, concentração de cálcio iônico, estabilidade alcoólica e térmica do leite de vacas leiteiras alimentadas durante o período de adaptação experimental

Variáveis	Tratamento	Dias de tratamento ¹			
		0	2°	5°	14°
CMS (kg MS/dia)	1	22,62 ^a	22,45 ^a	20,9 ^a	21,29 ^a
	2	26,2 ^a	28,03 ^a	25,14 ^a	24,89 ^a
	3	22,95 ^b	25,39 ^{ab}	25,26 ^{ab}	27,82 ^a
	4	22,28 ^b	29,27 ^a	27,88 ^a	27,36 ^a
PL (kg/vaca/dia)	1	32,11 ^{ab}	33,73 ^a	31,39 ^b	33,25 ^{ab}
	2	36,20 ^a	36,32 ^a	34,54 ^{ab}	33,50 ^b
	3	36,48 ^a	34,31 ^{ab}	32,11 ^{bc}	31,33 ^c
	4	35,70 ^a	36,46 ^a	36,46 ^a	37,34 ^a
pH	1	6,70 ^b	6,68 ^b	6,74 ^{ab}	6,81 ^a
	2	6,73 ^a	6,74 ^a	6,74 ^a	6,73 ^a
	3	6,76 ^a	6,78 ^a	6,71 ^a	6,79 ^a
	4	6,74 ^a	6,76 ^a	6,70 ^a	6,72 ^a
Cai	1	138 ^b	184,1 ^a	122,23 ^b	126,78 ^b
	2	147,3 ^a	104,85 ^b	123,9 ^b	117,5 ^b
	3	133,92 ^{ab}	149,82 ^a	115,82 ^b	124,65 ^{ab}
	4	144,24 ^a	109,64 ^b	121,24 ^b	118,84 ^b
Estabilidade alcoólica (%)	1	76,35 ^a	72,35 ^b	73,61 ^{ab}	72,92 ^b
	2	72,24 ^a	74,64 ^a	75,84 ^a	75,04 ^a
	3	75,72 ^a	75,91 ^a	75,44 ^a	75,73 ^a
	4	72,53 ^c	74,93 ^{bc}	79,33 ^a	76,53 ^{ab}
Estabilidade térmica (min)	1	17,14	15,41	18,3	16,75
	2	15,88	7,57	15,73	26,76
	3	13,02	13,57	18,49	12,45
	4	10,72	10,96	9,49	21,56

Dias de tratamento: 0 = antes da troca da dieta; 2° dia de tratamento com a dieta; 5° dia de tratamento com a dieta; 14° dia de tratamento com a dieta. ²MF = milho floculado; ³MM = milho moído; ⁴BR = baixa relação PDR:PNDR; ⁵AR = alta relação PDR:PNDR. Valores seguidos por letras diferem entre si (P<0,05) pelo teste F. TRAT 1 = MF mantido e substituição da BR pela AR; TRAT 2 = MM mantido e substituição da BR pela AR; TRAT 3 = substituição do MF pelo MM e AR mantida; TRAT 4 = substituição do MF pelo MM e BR mantida.

EXPERIMENTO 2: FONTE DE CNF E INCLUSÃO OU NÃO DE TAMPONANTE/ALCALINIZANTE SOBRE O CONSUMO DE MATÉRIA SECA, PRODUÇÃO E ESTABILIDADE DO LEITE DURANTE O PERÍODO DE ADAPTAÇÃO

Durante o período de adaptação, foi observado efeito de interação tripla entre o dia de troca da dieta, a fonte de carboidrato não fibroso e a inclusão ou não de tamp/alc ($P = 0,0437$) sobre o consumo de matéria seca. Foi observado efeito isolado de dia de troca da dieta para as variáveis produção de leite ($P = 0,0026$), pH ($P = 0,0001$), concentração de cálcio iônico ($P < 0,0001$) e estabilidade térmica ($P < 0,0001$). Já para a variável estabilidade alcoólica, houveram efeitos de interação entre a fonte de carboidrato não fibroso e a inclusão ou não de tamp/alc ($P < 0,0001$) e entre o dia de troca da dieta e a inclusão ou não de tamp/alc ($P = 0,0266$) (Tabela 7).

Tabela 7. Valores de P referente ao efeito da fonte de CNF e da inclusão de tamponante/alcalinizante sobre o consumo de matéria seca, produção de leite, pH, concentração de cálcio iônico, estabilidade alcoólica e térmica do leite de vacas leiteiras alimentadas durante o período de adaptação experimental

Item	P - valor					
	CMS	PL	pH	Cai	Estabilidade alcoólica	Estabilidade térmica
CNF ¹	<0,0001	0,3523	0,9528	0,9346	0,0557	0,418
TA ²	<0,0001	0,4092	0,9298	0,8006	0,1496	0,2454
CNF*TA	0,7129	0,3077	0,6008	0,5776	<0,0001	0,2545
DIA ³	0,0073	0,0026	0,0001	<0,0001	0,4677	<0,0001
DIA* CNF	0,0104	0,1213	0,3895	0,4755	0,4875	0,0582
DIA*TA	0,0007	0,6999	0,8821	0,9681	0,0266	0,3303
DIA*CNF*TA	0,0437	0,1851	0,1172	0,5236	0,0557	0,9788

¹Tipo de carboidrato não fibrosos principal contido na dieta sendo ou o milho moído ou a substituição parcial do milho moído por polpa cítrica; ²Inclusão ou não de tamponante/alcalinizante na dieta; ³Dia de troca da dieta

4.3.1. Consumo de matéria seca (CMS)

Vacas que receberam dieta contendo milho moído ao invés de polpa cítrica associado a não inclusão de tamp/alc, apresentaram aumento no consumo de matéria seca, em que no dia 0 antes da troca dieta observou-se o menor valor (20,02) e no 5º DTD o maior valor (24,23). Para vacas submetidas ao tratamento com polpa cítrica associada a inclusão de tamp/alc, também houve aumento no CMS em que o dia 0 antes da troca da dieta foi o de menor valor (19,05) e o 2º DTD o maior valor (21,34) (Tabela 8).

O aumento de CMS resultante da retirada da PC da dieta foi mais expressivo em dietas sem inclusão de tamp/alc.

4.3.2. Estabilidade alcoólica

Apesar de ter havido efeitos de interação entre a fonte de carboidrato não fibroso e a inclusão ou não de tamp/alc e entre o dia de troca da dieta e a inclusão ou não de tamp/alc ao ser submetido ao teste de média, não foi encontrado diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 8).

Tabela 8. Efeito da fonte de CNF e da inclusão de tamponante/ alcalinizante sobre o consumo de matéria seca, produção de leite, pH, concentração de cálcio iônico, estabilidade alcoólica e térmica do leite de vacas leiteiras alimentadas durante o período de adaptação experimental

Variáveis	Tratamento	Dias de tratamento ¹			
		0	2°	5°	14°
CMS (kg MS/dia)	A	22,22 ^{ab}	23,36 ^a	21,64 ^{ab}	21,03 ^b
	B	20,02 ^c	23,38 ^{ab}	24,23 ^a	21,31 ^{bc}
	C	19,05 ^b	21,34 ^a	20,70 ^{ab}	20,89 ^{ab}
	D	20,84 ^a	22,80 ^a	21,82 ^a	21,05 ^a
PL (kg/vaca/dia)	A	29,26	28,80	28,86	28,40
	B	28,82	28,84	30,28	27,22
	C	28,07	28,98	28,75	27,20
	D	29,12	30,07	29,27	29,62
pH	A	6,63	6,69	6,68	6,62
	B	6,60	6,68	6,66	6,63
	C	6,63	6,68	6,67	6,66
	D	6,63	6,66	6,66	6,64
Cai	A	172,79	139,12	120,79	152,79
	B	202,29	168,62	115,62	188,95
	C	185,39	123,14	116,39	156,89
	D	176	146	136	161
Estabilidade alcoólica (%)	A	76,68	77,62	78,68	76,68
	B	74,50	75,13	74,50	74,50
	C	75,89	74,28	75,09	76,09
	D	75,25	76,25	76,75	76,33
Estabilidade térmica (min)	A	20,17	13,05	22,70	23,30
	B	19,36	6,63	8,30	7,38
	C	21,67	10,45	22,72	32,27
	D	26,71	8,45	20,28	48,06

Dias de tratamento: 0 = antes da troca da dieta; 2° dia de tratamento com a dieta; 5° dia de tratamento com a dieta; 14° dia de tratamento com a dieta. ² MM = milho moído; PC = substituição parcial do milho moído por polpa cítrica; tamp/alc = tamponante/alcalinizante. Valores seguidos por letras diferem entre si (P<0,05) pelo teste F. TRAT A = PC substituída por MM e inclusão de tamp/alc mantido; TRAT B = PC substituída por MM e ausência de tamp/alc mantida; TRAT C = PC mantida e inclusão de tamp/alc; TRAT D = MM mantido e inclusão de tamp/alc.

4.4. DISCUSSÃO

EXPERIMENTO 1: TIPO DE PROCESSAMENTO DO MILHO E DEGRADABILIDADE DA PROTEÍNA DIETÉTICA SOBRE O CONSUMO DE MATÉRIA SECA, PRODUÇÃO E ESTABILIDADE DO LEITE DURANTE O PERÍODO DE ADAPTAÇÃO

4.4.1. Consumo de matéria seca (CMS)

Nos tratamentos nos quais o milho moído associado a alta relação PDR:PNDR foi fornecido, e nos que foram fornecidos o milho moído associado a baixa relação PDR:PNDR, no transcorrer dos dias de troca da dieta, observou-se que o CMS foi aumentado. Este fato pode estar relacionado ao fato do milho moído ser uma fonte de alta relação PDR:PNDR, pois de acordo com (PERES, 2011) o processamento aumenta a superfície específica favorecendo a ação enzimática e a adesão bacteriana aos grânulos de amido. Resultados semelhantes ao do presente estudo foram observados por Wachirapakorna *et al.* (2014), que avaliando os parâmetros fermentativos e produtivos de vacas Holandesas identificaram aumento no CMS com o aumento da disponibilidade proteica da dieta. Hwangbo *et al.* (2009) também observaram resultados semelhantes ao presente estudo, no qual observaram os efeitos da fonte de proteína degradada no rúmen na produção e metabolismo ruminal em vacas leiteiras e relataram que a proporção de PDR influencia no CMS dos animais.

Entretanto, Broderick (2003) avaliando os efeitos de diferentes fontes de energéticas e proteicas sobre a produção de vacas leiteiras em lactação verificaram que o CMS é proporcional a oferta de proteína na dieta.

4.4.2. Produção de leite (PL)

Nos tratamentos em que foi fornecido milho floculado associado a alta relação PDR:PNDR, no transcorrer dos dias de troca da dieta, observou-se que a produção de leite foi reduzida devido ao fato de o processamento do amido proporciona maior disponibilidade de energia rapidamente fermentável no rúmen o que pode resultar em reduções no consumo e digestibilidade dos alimentos (McCARTHY *et al.*, 1989). A redução do consumo em dietas com carboidratos facilmente fermentáveis, pode ser explicada pela teoria da oxidação hepática (ALLEN, BRADFORD e OBA, 2009) que considera que ingestão dos alimentos é

controlada por sinais provenientes do fígado para o cérebro e estimulada pela oxidação de vários compostos. Dentre os compostos oxidados, o propionato proveniente da fermentação de alimentos concentrados, aumenta o status energético hepático, gerando a sensação de saciedade para encerrar a refeição.

Nos tratamentos em que foram fornecidos milho moído associado a alta relação PDR:PNDR ou em que houve a substituição do milho floculado pelo moído e manteve-se alta relação PDR:PNDR, no transcorrer dos dias de troca da dieta, observou-se que a produção de leite também foi reduzida e pode ser explicada devido a degradabilidade efetiva dos componentes contido na dieta terem sido menores em relação aos da dieta contendo milho floculado. Segundo Cone *et al.* (1989), avaliando a degradabilidade ruminal do amido observou que, o impacto da floculação sobre a degradabilidade do amido é maior do que os efeitos da moagem dos grãos. Lykos e Varga (1995), avaliando os métodos de processamento na degradação das frações energéticas e proteína da dieta obtiveram valores de degradação do amido superiores no milho floculado em relação ao milho moído fino ou quebrado. Segundo Rooney e Pflugfelder (1986), explicam que a floculação causa gelatinização do amido (quebra da matriz protéica ao redor dos grânulos de amido e ruptura das pontes de hidrogênio intermoleculares) e aumenta a superfície do grão para o ataque microbiano, resultando em maior digestão ruminal do amido.

4.4.3. Estabilidade do leite

Para o tratamento contendo milho floculado e alta relação PDR:PNDR, no transcorrer dos dias de troca da dieta, observou-se no 2º dia de troca redução no valor de pH, seguido por aumento até o 14º dia de troca e esse aumento pode ser explicado pelo fato de que quanto maior a disponibilidade de nitrogênio para a microbiota ruminal, menor será o valor do pH encontrado nas amostras de leite pois, o nitrogênio presente na dieta em forma de amônia é utilizada pelos microrganismos e o excedente absorvido pela parede do rúmen e transportado para o fígado, entrando no ciclo da ureia, que pode ser reciclada, destinada a glândula mamária ou excretada via urina (VAN SOEST, 1994). As fontes proteicas de alta degradabilidade podem ser melhor utilizadas quando associadas a fontes energéticas também de alta degradabilidade ruminal, pois, sincronização da disponibilidade ruminal de energia e nitrogênio permite maior eficiência no processo microbiano e reduz as perdas de nitrogênio e energia (NOCEK e RUSSEL, 1988). Para o tratamento em que o milho moído foi mantido e a relação PDR:PNDR foi aumentada e para o tratamento em que o milho floculado foi

substituído pelo moído e a e a relação PDR:PNDR manteve-se baixa percebe-se que as reduções da concentração de cálcio iônico no decorrer dos dias de troca da dieta podem estar relacionadas com a variação do valor de pH referente as respectivas amostras. Alguns autores comentam que entre os fatores que afetam a distribuição do cálcio iônico no leite, são: pH, temperatura, adição ou remoção de cálcio, tempo de estocagem (LEWIS, 2011). Lin *et al.* (2003), avaliando o efeito do pH no cálcio do leite observaram que na faixa de pH de 6,5 a 7,05, as amostras de leite com os maiores valores de pH tiveram menor concentração de cálcio iônico.

Já para o tratamento em que o milho floculado foi mantido e a relação PDR:PNDR foi aumentada e para o tratamento em que o milho floculado foi substituído pelo milho moído e a relação PDR:PNDR manteve-se alta, a redução da concentração de cálcio iônico no decorrer dos dias de troca da dieta pode ser explicada pelo efeito da disponibilidade ruminal de proteína sobre a concentração láctea de cálcio iônico. De acordo com Li *et al.* (2014), avaliaram os efeitos dos métodos de processamento do grão de milho sobre o perfil de proteína do leite de vaca e observaram que a degradabilidade ruminal da proteína e da energia dietética pode alterar a expressão de proteínas do leite, não sendo avaliado nesse estudo os efeitos destes fatores dietéticos sobre a estabilidade do leite.

Marques *et al.* (2011), avaliando o efeito da suplementação com sal aniônico para vacas em lactação observou que houve correlação negativa entre o teor de cálcio iônico e a concentração de álcool necessária para induzir a precipitação na prova do álcool e com pH do leite. Quanto maiores os teores de cálcio iônico, menores são os valores de pH do leite e a concentração de etanol necessária para induzir à precipitação do leite na prova do álcool.

Essa relação também foi encontrada no presente estudo em que, o valor máximo de concentração de cálcio iônico, observado no 2º dia da troca da dieta, para tratamento contendo milho floculado e alta relação PDR:PNDR coincidiu com o valor mínimo de estabilidade ao teste do álcool e do pH do leite, observado também no 2º dia de troca da dieta. O mesmo comportamento foi identificado para o tratamento contendo milho moído e baixa relação PDR:PNDR, em que o maior de concentração de cálcio iônico, foi observado no dia 0 antes da troca da dieta e o menor valor de estabilidade alcoólica, foi observado também no dia 0 antes da troca da dieta.

De acordo com Barros (2001), Molina *et al.* (2001), Negri *et al.* (2003) e Lin *et al.* (2003), leite com maior instabilidade à prova do álcool possui maior concentração de cálcio iônico. O cálcio livre diminui a repulsão entre as submicelas, o que fragiliza a estrutura

micelar da caseína, deixando-a mais propensa à desestabilização e, conseqüentemente, à precipitação quando exposta à ação desidratante do etanol

Molina *et al.* (2001); Chavez *et al.*, 2004, Fisher *et al.* (2012) e Martins *et al.* (2015) relataram que o teste do álcool/ alizarol apresenta baixa associação com o aquecimento do leite. No entanto, o teste do álcool ainda é a opção mais prática e econômica de se estimar a estabilidade térmica do leite. A baixa associação entre os resultados do teste do álcool e a estabilidade ao leite ao tratamento térmico indica que uma parcela do leite condensado no teste do álcool poderia resistir ao tratamento térmico empregado pela indústria (MARQUES *et al.*, 2011).

Nesse estudo pode-se observar que somente o valor mínimo de estabilidade alcoólica, no 2º dia de troca da dieta, correspondeu ao mesmo valor mínimo de tempo de coagulação também obtido no 2º dia de troca da dieta. Os demais resultados foram contraditórios confirmando assim a baixa associação existente entre a estabilidade térmica e alcoólica. Porém, esses resultados não apresentaram efeito estatístico significativo.

EXPERIMENTO 2: FONTE DE CNF E INCLUSÃO OU NÃO DE TAMPONANTE/ ALCALINIZANTE SOBRE O CONSUMO DE MATÉRIA SECA, PRODUÇÃO E ESTABILIDADE DO LEITE DURANTE O PERÍODO DE ADAPTAÇÃO

Observou-se efeito a curto prazo da troca da dieta apenas para variável consumo de matéria seca (CMS), não sendo observado efeito para as variáveis produção de leite, pH, cálcio iônico, estabilidade alcoólica e estabilidade térmica

4.4.4. Consumo de matéria seca (CMS)

Para o tratamento 1, percebeu-se até o 2º dia de troca aumento seguido de redução no CMS até o 14º dia de troca da dieta, com diferença de médias entre o 2º e 14º dia de tratamento. Para o tratamento 2, percebeu-se até o 5º dia de troca da dieta aumento seguido de redução do CMS até o 14º dia de troca, com diferença entre o dia 0 antes da troca e o 2º dia de troca e entre o dia 0 antes da troca e o 5º dia de troca da dieta. Esses aumentos no CMS podem estar relacionados ao fato de que na dieta contendo milho moído os animais ingerirem maiores quantidades de amido, em relação a dieta contendo polpa cítrica que é um material com um teor muito baixa de amido em sua composição, resultando em maiores quantidades de amido no intestino e a redução no CMS pode estar relacionada com a existência de

limitação enzimática para digestão de amido no intestino delgado. Resultados semelhantes foram obtidos por Larson (2003) avaliando ao efeito da fonte de CNF e da degradabilidade ruminal da proteína sobre o desempenho produtivo de vacas leiteiras observou que vacas alimentadas com dieta contendo milho moído apresentaram maior CMS em relação as vacas alimentadas com dietas a base de polpa cítrica.

Para o tratamento 4, percebeu-se até o 2º dia de troca da dieta aumento no CMS, seguido por reduções até o 14º dia de troca, com diferença entre o dia 0 antes da troca e o 2º dia de troca. O aumento no CMS na dieta contendo polpa cítrica pode estar relacionado ao fato de que a polpa cítrica apresenta alto teor de carboidratos solúveis, parede celular altamente digestível, apresentar rápida degradação ruminal (WAINMAN e DEWEY, 1988; NOCEK e TAMMINGA, 1991; STERN e ZIEMER, 1993; VAN SOEST *et al.*, 1991) e a fração fibrosa da polpa cítrica apresenta elevada digestibilidade ruminal, pois apesar do teor de FDA tem baixo teor de lignina, significando que quase totalidade da fibra é digerida no rúmen do animal (ORSKOV, 1987).

Resultados semelhantes aos de CMS foram obtidos por Santos *et al.* (2001) que ao estudarem processamento do grão de milho e sua substituição parcial por polpa cítrica peletizada sobre o desempenho de vacas leiteiras observaram aumento da degradabilidade ruminal dos carboidratos não estruturais da dieta, através da substituição do milho moído grosso por milho floculado ou por polpa de cítrica, apresentou teve efeito benéfico no desempenho de vacas leiteiras em termos de produção de leite corrigidos para produção de gordura e proteína, consumo de MS e eficiência alimentar. Ainda Santos *et al.* (2001), a inclusão de polpa de cítrica peletizada aumentou as digestibilidades da MS, MO, FDN, FDA das dietas contendo ambos os tipos de milho e aumentou a digestibilidade do amido nas dietas contendo milho moído grosso.

4.4.5. Produção de leite (PL)

A curto prazo, a produção de leite não foi afetada pela adição de polpa cítrica ou a pela substituição parcial de polpa cítrica por milho moído associado a utilização ou não de tamponante/alcalinizante. Resultados semelhantes foram obtidos por Santos *et al.* (2001) ao observarem durante 14 dias, sendo os 10 dias de adaptação e 4 dias de coleta, os efeitos do processamento do grão de milho e sua substituição parcial por polpa de citros peletizada sobre o desempenho, digestibilidade de nutrientes e parâmetros sanguíneos em vacas leiteiras

verificaram que a produção de leite não foi afetada de forma significativa pelos tratamentos em que associaram a substituição do milho floculado ou milho moído por polpa cítrica.

Nussio *et al.* (2002) ao analisarem também durante 14 dias, sendo os 10 dias de adaptação e 4 dias de coleta, os efeitos da fonte de amido de diferentes degradabilidades e sua substituição parcial por polpa cítrica em dietas para vacas leiteiras não observaram efeito do tipo de processamento do milho e da adição de polpa cítrica na produção de leite. Scoton (2003) ao observar durante 20 dias, sendo 10 dias de coleta e 10 dias de adaptação, os efeitos da substituição do milho moído fino por polpa cítrica peletizada e/ou raspa de mandioca na dieta de vacas leiteiras em final de lactação também identificou que a substituição de produtos amiláceos por polpa cítrica, não afetou a produção de leite. Ainda Scoton (2003), ao encontrar resultado semelhante ao do presente estudo afirma que a ausência de efeito significativo no desempenho de vacas leiteiras quando esses subprodutos substituem parcial ou totalmente o milho, sugerem que o valor energético sugerido para esses alimentos, pode estar subestimado.

De acordo com as informações da tabela de requisitos nutricionais de gado leiteiro (NRC, 2001) a polpa cítrica apresenta composições de 8,5% de matéria seca, 0,6% de proteína bruta, 1,3% de extrato etéreo, 3,5% de FDN, 4,5% de FDA, 0,1% de lignina e 4,2% de matéria mineral, sendo esses valores baseados na matéria seca da dieta.

4.4.6. Estabilidade do leite

Para avaliar a estabilidade do leite foram realizadas análises de pH, concentração de cálcio iônico, teste do álcool e tempo de coagulação. A curto prazo, a estabilidade do leite não foi afetada pela adição de polpa cítrica ou a pela substituição parcial de polpa cítrica por milho moído associado a utilização ou não de tamponante/ alcalinizante.

O efeito da troca da dieta durante o período de adaptação pode não ter sido tão evidente para o tratamento em que o milho moído foi o principal CNF pois, apesar da moagem aumentar a superfície específica favorecendo a ação enzimática e a adesão bacteriana aos grânulos de amido ocorre também a menor disponibilização de energia, menor produção de proteína microbiana (THEURER *et al.*, 1999) e maior taxa de escape de amido para intestino delgado, entretanto, esse amido é digerido com maior dificuldade nesse sítio, o que hipoteticamente, pode contribuir para o aumento das perdas fecais de amido (OWENS e SODERLUND, 2007) reduzindo assim os possíveis riscos de acidificação ruminal e metabólica. Já para o tratamento com adição de polpa cítrica também não foi observado efeito significativo pois este subproduto por conter pectina sofre ação fermentativa de

microrganismos celulolíticos, o que favorece a produção de acetato e não de lactato e propionato diminuindo a propensão em causar queda de pH ruminal (VAN SOEST, 1987 e 1994).

A curto prazo, o pH não foi afetado pela adição de polpa cítrica ou a pela substituição parcial de polpa cítrica por milho moído associado a utilização ou não de tamponante/alcalinizante. Há suspeitas de que a acidose ruminal ou metabólica afeta a estabilidade do leite. Para o presente estudo, essa hipótese deve ser descartada pois observou-se que os ácidos produzidos no rúmen a partir da fermentação dietética, absorvidos pela circulação sanguínea e destinados também a secreção láctea não afetaram o pH do leite pois o padrão fermentativo dos ingredientes utilizados não causaram acidificação ruminal ou sanguínea. Distúrbios metabólicos são mais evidentes em dietas com alta inclusão de grãos e com carboidratos prontamente fermentáveis no rúmen. Talvez pelas fontes de carboidratos não fibroso utilizados serem de baixa degradabilidade e fermentabilidade ruminal, alterações na estabilidade do leite não foram perceptíveis.

A concentração de cálcio iônico não foi afetada pela fonte de CNF associada ou não ao uso de tamponante/ alcalinizante. Entre os fatores que afetam a distribuição do cálcio iônico no leite, citam-se: pH, temperatura, adição ou remoção de cálcio, tempo de estocagem (LEWIS, 2011). Segundo Rose (1963), valores ácidos de pH do leite, reduz força iônica para a manutenção da estrutura micelar, o que determina um deslocamento do cálcio da fase coloidal para solúvel, aumentando o cálcio iônico (VAN BOEKEL, 1993). Para Barros (2001) e Barbosa *et al.* (2006), pH e a concentração de cálcio iônico no leite são variáveis inversamente proporcionais. Não podemos afirmar com convicção se essa relação de fato existe, mas observou-se no presente estudo que assim com o pH, a concentração de cálcio iônica também não foi afetada pelo efeito dietético.

Houveram efeitos de interações entre a fonte de CNF e a inclusão ou não de tamponante/ alcalinizante e entre o dia de troca da dieta e a inclusão ou não de tamponante/ alcalinizante sobre a estabilidade alcoólica do leite. Alguns autores afirmam haver relação entre a concentração de cálcio iônico no leite e a estabilidade alcoólica. Barros *et al.* (1999) relacionaram a redução da estabilidade da proteína do leite com o aumento da concentração de cálcio iônico e Barros (2001), existe uma relação inversamente proporcional entre a estabilidade das proteínas e a concentração de cálcio iônico do leite pois, o aumento da concentração de cálcio iônico favorece a coagulação e a redução da concentração de cálcio iônico dificulta a coagulação e isso está relacionado as cargas negativas das micelas. Já Marques *et al.* (2011), a estabilidade do leite na prova do álcool foi reduzida com o aumento

do teor de cálcio iônico no leite e quanto maiores os teores de cálcio iônico, menores são os valores de pH do leite e a concentração de etanol necessária para induzir à precipitação do leite na prova do álcool. No presente estudo, assim como a concentração de cálcio iônico, a estabilidade alcoólica também não foi afetada pelo efeito dietético.

Apenas o dia de troca da dieta afetou a estabilidade térmica do leite. Estudos observaram baixa associação entre a estabilidade do leite ao etanol e ao aquecimento (teste da fervura e o tempo de coagulação a 140° C) (MOLINA et al., 2001; CHAVEZ et al., 2004). Para Chavez *et al.* (2004), a estabilidade térmica é mais sensível à concentração de íons de cálcio do que a estabilidade do leite ao etanol, o que indica que o teste do álcool tem menor confiabilidade em prever a estabilidade térmica do leite. No presente estudo, assim como a concentração de cálcio iônico e a estabilidade alcoólica, a estabilidade térmica também não foi afetada pelo efeito dietético.

Referente ao efeito do dia após a troca da dieta sobre a produção de leite observou-se aumento na PL até o 2º dia de troca seguido de redução até o 14º dia de troca da dieta com diferença significativa entre o 14º dia de troca e os demais dias. Para o pH observou-se aumento no valor de pH até 2º dia de troca seguido de redução até o 14º dia de troca da dieta com diferença significativa entre o dia 0 antes da troca e o 2º dia de troca e entre o 5º e 14º dia de troca da dieta. Para a estabilidade térmica observou-se redução até o 2º dia de troca seguido por aumento até o 14º dia de troca com diferenças significativas entre o dia 0 antes da troca e o 2º e 5º dia de troca, entre o 2º, 5º e o 14º dia de troca.

Para a estabilidade alcoólica houve tendência de efeito entre o dia de troca da dieta, a fonte de CNF e a utilização ou não de tamponante/ alcalinizante em que observou-se que para vacas submetidas ao tratamento em que a dieta com adição polpa cítrica foi substituída pela sem adição de polpa cítrica e a inclusão de tamponante/ alcalinizante foi mantida e para o tratamento em que a não adição de polpa cítrica foi mantida e houve inclusão de tamponante/ alcalinizante verificou-se até o 5º dia de troca aumento seguido por redução da estabilidade alcoólica até o 14º dia de troca da dieta. Para o tratamento em que a dieta com adição polpa cítrica foi substituída pela sem adição de polpa cítrica e a não inclusão de tamponante/ alcalinizante foi mantida observou-se até o 2º dia de troca aumento seguido por redução da estabilidade alcoólica até o 14º dia de troca da dieta. Para o tratamento em que a adição de polpa cítrica foi mantida e houve a inclusão de tamponante/alcalinizante na dieta verificou-se até o 2º dia de troca redução seguido por aumento da estabilidade alcoólica até o 14º dia de troca da dieta.

Nos tratamentos contendo milho moído, o aumento da estabilidade alcoólica pode estar relacionado ao alto nível de glicose sanguínea pois na degradação ruminal do milho moído ocorre a produção de ácido propiônico que segundo Huntington (1997) é o principal substrato para síntese de glicose no fígado em vacas leiteiras. A glicose, que é indispensável para a formação de lactose, é gerada no fígado pela gliconeogênese, através do metabolismo de aminoácidos e ácido propiônico (LINDOFER, 2016).

Zanela *et al.* (2009), afirmam que a estabilidade do leite está relacionada aos teores de lactose do leite e que parece ser haver um consenso de que o leite instável apresenta teores mais baixos de lactose (SOBHANI *et al.*, 1998; BARROS, 2001; PONCE CEBALLO e HERNANDEZ, 2001; MARQUES, 2004). Sobhani *et al.* (1998), estudando a estabilidade ao álcool do leite e sua relação com leite e composição sanguínea em vacas leiteiras da raça Holandesa associaram a reação positiva ao teste do álcool aos baixos teores de glicose sanguínea. Já Ponce e Hernandez (2001) avaliando as propriedades físico-químicas do leite e sua relação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária encontraram diminuição significativa na taxa de lactose do leite das vacas com instabilidade ao etanol.

4.5. CONCLUSÃO

No experimento cuja finalidade foi avaliar o efeito do tipo de processamento do milho e a degradabilidade da proteína dietética observou-se que vacas alimentadas com milho moído associado a alta ou a baixa relação PDR:PNDR apresentaram aumento de até 20% no consumo de matéria seca, entretanto o fornecimento de dieta contendo a alta relação PDR:PNDR associada ao milho moído ou ao milho floculado causou a redução de até 16,5% na produção de leite. Para a variável pH das amostras de leite, o uso de milho floculado associado a alta relação PDR:PNDR aumentou em 2% o valor. Quanto a concentração de cálcio iônico, em todos os tratamentos testados, foi observada redução e consequentemente maior predisposição a desestabilização das micelas. O milho floculado associado ao aumento da relação PDR:PNDR foi responsável pela redução de 5,5% da estabilidade do leite ao teste do álcool, porém vacas submetidas a dieta com milho moído associado a baixa relação PDR:PNDR apresentaram aumento de 9,5% na estabilidade alcoólica.

Já no experimento com fonte de CNF e inclusão ou não de tamp/alc, o consumo de matéria seca apresentou valores crescentes nos tratamentos com milho moído associado a não inclusão de tamp/alc, em que foi observado aumento em 2%, e com polpa cítrica associado a inclusão de tamp/alc, em que foi observado aumento de 12%.

Diante desses resultados obtidos podemos deduzir que durante o período de adaptação, o efeito a curto prazo de troca foi mais nítido nas dietas contendo milho processado associado a proteínas de diferentes degradabilidades ruminal do que nas dietas contendo fontes de carboidratos não fibrosos associados à inclusão ou não de tamp/alc. Porém em ambos os estudos, as vacas apresentaram aumento no consumo de matéria seca.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, M. S; BRADFORD, B. J; OBA, M. BOARD-INVITED REVIEW: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 3317 - 3334, 2009.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. Arlington, VA.

BARBOSA, R. S; RIBEIRO, M. E. R; STUMPF JUNIOR, W; HAUSEN, L. J. O. V; SIMON, R; SANTOS, C.S; FISCHER, V. **Estudo do Leite Instável Não Ácido (LINA) em vacas em pastoreio de campo nativo**. In: XVI Congresso de Iniciação científica, IX Encontro de Pós-Graduação, 2007, Pelotas. Anais... Pelotas: Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel - Universidade Federal de Pelotas, 2007.

BARBOSA, R. S; SILVEIRA, I. D. B; FISCHER, V; RIBEIRO, M. E; STUMPF, W. J; MARQUES, L. T. Efeitos dos horários de medida, do estágio de lactação e do Leite Instável Não Ácido (LINA) sobre alguns atributos físicos do leite bovino - Parte: 2. In: IX Congresso Panamericano de Leite, *Anais...* Porto Alegre, 2006.

BARROS, L. M. DENIS, N. S; GONZALEZ, M. A; NUNEZ, A. Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. **Revista Prácticas Veterinarias**, v. 9, p. 315, 1999.

BARROS, L. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In: GONZÁLES, F. H. D; DURR, J. W; FONTANELLI, R. S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, p.44-57, 2001.

BARROS, L. **Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite**. In: GONZÁLES, F.H.D.; DURR, J.W.; FONTANELLI, R.S. (Eds.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. p. 44 - 57, 2001.

BARROS, L; DENIS, N; GONZÁLEZ, O; GALAIN, C. Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. **Revista Prácticas Veterinarias**, Florida, v. 9, p. 315-318, 1999.

BRODERICK, G. A. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 1370 – 1381, 2003.

CHAVEZ, M. et al. Estabilidad térmica y al alcohol de leche cruda de tanque en relación con el ingreso al ordeño de vacas despues del parto. **Revista Argentina de Producción Animal**. v. 24, 2004.

CHAVEZ, M. S; NEGRI, L. M; TAVERNA, M. A; CUATRÍN, A. Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. **Journal of Dairy Research**, v. 71, n.2, p.201-206, 2004.

CONE, J. W; CLINE-THEIL, W; MALESTEIN, A; KLOOSTER, A. T. van. Degradation of starch by incubation with rumen fluid: a comparison of different starch sources. **Journal of the Science of Food Agriculture**, v.49, p.173-178, 1989.

FISHER, V; RIBEIRO, M. E. R; ZANELA, M. B; MARQUES, L. T; ABREU, A. S; MACHADO, S. C; FRUSCALSO, V; BARBOSA, R. S; STUMPF, M. T. Leite instável não ácido: um problema solucionável? **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.3, p.838-849, 2012.

HUNTINGTON, G. B. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 852 – 867, 1997.

HWANGBO, S; CHOI, S. H; KIM, S. W; SON, D. S; PARK, H. S; LEE, S. H; JO, I. H. Effects of crude protein levels in total mixed rations on growth performance and meat quality in growing Korean black goats. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 8, p. 133 - 1139, 2009.

LARSON, C. C. **The effects of nonfiber carbohydrate source and protein degradability on lactation performance of Holstein cows**. Gainesville: University of Florida, 2003. 108p. Thesis (Master of Science) - University of Florida, 2003.

LEWIS, M. J. The measurement and significance of ionic calcium in milk – review. **International Journal of Dairy Technology**, v.64, n.1, p.1-13, 2011.

LI, S. S; SHEN, J. S; REN, D. X; LIU, J. X. Effects of the processing methods of corn grain and soybean meal on milk protein expression profiles in dairy cows. **Animal**, v.9, n.2, p.267-274, 2014.

LIN, M. J; LEWIS, M. J; GRANDISON, A. G. Effect of pH on the calcium movement in milk between colloidal and ionic phase. In: CONFERENCE IN ANIMAL PRODUCTION, Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre: World Association on Animal Production, n. 9, 2003.

LINDORFER, M. S; FRAGA, D. R; KLEMMANN, A. P. H; VIÉGAS, J; SZAMBELAN, K. W; METZ, M. **Relação entre lactose do leite e a produção leiteira de vacas da raça Holandesa**. XXIV Seminário de Iniciação Científica. 2016.

LYKOS, T; VARGA, G. Effects of processing method on degradation characteristics of protein and carbohydrate sources in situ. **Journal of Dairy Science**, v.78, p.1789 - 1801, 1995.

MARQUES, L. T. **Ocorrência do leite instável não ácido (LINA) e seu efeito sobre a composição química e aspectos físicos**. 2004. 68f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS. 2004.

MARQUES, L. T; FISCHER, V; ZANELA, M. B; RIBEIRO, M. E. R; STUMPF JUNIOR, W; RODRIGUES, C. M. Produção leiteira, composição do leite e perfil bioquímico sanguíneo de vacas lactantes sob suplementação com sal aniônico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.5, p.1088-1094, 2011.

MARQUES, L. T; FISCHER, V; ZANELA, M. Z; RIBEIRO, M. E. R; STUMPF JUNIOR, W; MANZKE. Fornecimento de suplementos com diferentes níveis de energia e proteína para vacas Jersey e seus efeitos sobre a instabilidade do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2724 -2730, 2010.

MARQUES, L. T; ZANELA, M. B; RIBEIRO, M. E. R; STUMPF JUNIOR, W; FISCHER, V. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, n.1, p.91-97, 2007.

MARTINS, C. M. M. R; ARCARI, M. A; WELTER, K. C; SARAN NETO, A; OLIVEIRA, C. A. F; SANTOS, M. V. Effect of dietary cation-anion difference on performance of lactating dairy cows and stability of milk proteins. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p.2650-2661, 2015.

MARX, I. G; LAZZAROTTO, T. C; DRUNKLER, D. A; COLLA, E. Ocorrência do leite instável não ácido na região oeste do Paraná. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v.13, n.1, p.1-10, 2011.

McCARTHY, R. D. JR; KLUSMEYER, T. H; VICINI, J. L; CLARK, J. H; NELSON, D. R. Effects of source of protein and carbohydrate on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 8, p. 2002 - 2016, 1989.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, 2002.

MOLINA L. H; GONZÁLEZ R; BRITO, C; CARRILLO, B; PINTO, M. Correlacion entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechero. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.33, n.2, p.233-240, 2001.

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

NEGRI, L; CHAVEZ, M; TAVERNA, M; CUATRIN, A; RUBIOLO, A. Determinación de las variables que afectan la estabilidad térmica de la leche utilizando un método capilar para evaluar el tiempo de coagulación por calor. **Revista Argentina de Lactología**, n.22, p.33-44, 2003.

NOCEK, J. E; RUSSELL, J. B. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 8, p. 2070 - 2107, 1988.

NOCEK, J.E; TAMINGA, S. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk and composition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p. 3598, 1991.

NUSSIO, C. M. B; SANTOS, F. A. P; PIRES. A. V; SIMAS. J. M. C; ZOPOLLATTO, M. Fontes de amido de diferentes degradabilidades e sua substituição por polpa de citrus em dietas para vacas leiteiras. **Acta Scientiarum**, v.24, n.4, p.1079-1086, 2002.

OLIVEIRA, C. A. F; LOPES, L. C; FRANCO, R. C; CORASSIN, C. H. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.12, n.2, p.508-515, 2011.

ORSKOV, E. R. **The feeding of ruminants: principles and practice**. Chalcombe: Rowett Research Institute, p. 113, 1987.

ORSKOV, E.R. **The feeding of ruminants: principles and practice**. Chalcombe: Rowett Research Institute, p. 113, 1987.

OWENS, F. N; SODERLUND, S. Ruminant and post-ruminal starch digestion by cattle. *Proceedings...* In: PIONEER HI-BRED, A DUPONT BUSINESS CONFERENCE, 2007.

PERES, M. S. **Processamento de grãos de milho do tipo *flint* ou duro e adequação protéica em rações para bovinos em terminação - desempenho animal e digestibilidade do amido**. Piracicaba, SP, 2011, 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 2011.

PONCE CEBALLO, P; HERNÁNDEZ, R. **Propriedades físico-químicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária**. In: GONZÁLEZ, F. H. D; DÜRR, J. W; FONTANELI, R.S. (Ed.). *Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre: UFRGS, p, 58 - 68, 2001.

PONCE, P. C; HERNÁNDEZ, R. Efecto de tres tipos de dieta sobre la aparición de transtornos metabólicos y su relación con alteraciones en la composición de la leche en vacas Holstein Friesian. **Zootecnia Tropical**, v.23, n.3, p.295-310, 2005.

ROONEY, L. W; PFLUGFELDER, R. L. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 1607-1623, 1986.

ROSE, D. Heat stability of bovine milk: a review. **Dairy Science Abstracts**, n. 25, p. 45 - 52, 1963.

SANTOS, F. A. P; MENEZES JUNIOR, M. P; SIMAS, J. M. C; PIRES, A. V; NUSSIO, C. M. B. Processamento do grão de milho e sua substituição parcial por polpa de citros peletizada sobre o desempenho, digestibilidade de nutrientes e parâmetros sanguíneos em vacas leiteiras. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 923-931, 2001.

SCHMIDT, F. A. **Efeito do suprimento das exigências de energia e/ou proteína na recuperação da instabilidade do leite ao teste do álcool**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2014

SCOTON, R. A. **Substituição do milho moído fino por polpa cítrica peletizada e/ ou raspa de mandioca na dieta de vaca leiteiras em final de lactação**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo, 55 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo, 2003.

SOBHANI, S.; VALIZADEH, R.; NASERIAN, A. Alcohol stability of milk and its relation to milk and blood composition in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.58, 1998.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS. Statistical analysis user's guide. Version 8.2. Cary, p. 1686, 2001.

STERN, M. D; ZIEMER C. J. Consider value, cost when selecting nonforage fiber. **Feedstuffs**. p.14, jan. 1993.

STERN, M. D; ZIEMER, C. J. Consider value, cost when selecting no forage fiber. **Feedstuffs**, Minnetonka, p. 14, 1993.

STUMPF, M. T; FISCHER, V; MCMANUS, C. M; KOLLING, G. J; ZANELA, M. B; SANTOS, C. S; ABREU, A. S; MONTAGNER, P. Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell tight junctions and reduces ethanol stability of milk. **Animal**, v. 7, p.1137-1142, 2013.

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

TSIOULPAS, A; GRANDISON, A. S; LEWIS, M. J. Changes In Physical Properties of bovine milk from the colostrums period to early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 5012-5017, 2007.

VAN BOEKEL, M. A. J. S. Mechanisms of heat coagulation of milk products, v. 3, n. 2, p. 205 - 2015, 1993.

VAN SOEST, P. J . Soluble carbohydrates and the non-fiber components of feeds .**Large Animal Veterinary**, v.42, p. 44, 1987.

VAN SOEST, P. J, ROBERTSON, J. B, LEWIS, B. A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, p. 476p, 1994.

VAN SOEST, P. J; ROBERTSON, J. B; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p. 3583-3596, 1991.

WACHIRAPAKORNA, C; PARMALUKA, P; WANAPATA, M; PAKDEEA, P; CHERDTHONGA, A. Effects of levels of crude protein and ground corn cobs in total mixed ration on intake, rumen fermentation and milk production in crossbred Holstein Friesian lactating dairy cows. **Journal of Applied Animal Research**, v. 42, n. 3, p. 263 - 268, 2014.

WAINMAN, F. W; DEWEY, J. S. **Feedingstuffs evaluation unit -fifth report**. Bucksburn, Scotland, UK: Rowett Research Institute, p. 123, 1988.

WAINMAN, F.W; DEWEY, J. S. **Feedingstuffs evaluation unit-fifth report**. Chalcombe: Rowett Research Institute, p. 123, 1988.

ZANELA, M. B; FISCHER, V; RIBEIRO, M. E. R; BARBOSA, R. S; MARQUES, L. T; STUMPF JUNIOR, W; ZANELA, C. Leite instável não-ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.835-840, 2006.

ZANELA, M. B; RIBEIRO, M. E. R; FISCHER, V; GOMES, J. F; STUMPF JÚNIOR, W. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 4, p. 1009-1013, 2009.

CAPÍTULO 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A associação entre o processamento do milho e a degradabilidade ruminal da proteína afetaram o comportamento alimentar, o consumo de matéria seca e a produção de leite. Vacas alimentadas com milho floculado e alta relação PDR:PNDR apresentaram os menores tempos de alimentação (TAL/ kg de MS ingerida) e os maiores tempos de ruminação (TRU/ kg de FDN consumido e TRU/ kg de MS ingerida). Já consumo de matéria seca foi maior em vacas alimentadas com milho moído em ambas relações de PDR:PNDR e maior também em vacas alimentadas com dieta contendo milho moído sem inclusão de tamp/alc e vacas alimentadas com polpa cítrica com inclusão de tamp/alc. Em dietas a base de milho moído, a substituição de baixa relação PDR:PNDR para alta relação PDR:PNDR reduziu a produção de leite partir do 5º dia de troca da dieta.

O tipo de processamento do milho induziu os animais a selecionarem as partículas da dieta, uma vez que vacas alimentadas com milho moído rejeitaram as partículas dietéticas mais longas possivelmente pela maior facilidade de separação e seleção do milho moído em relação ao floculado.

Já metabolismo ruminal, a acidez fecal e urinária dos animais foi alterada ou pelo tipo de processamento do milho ou pela relação PDR:PNDR, sem efeito associativo entre os fatores. Apesar de que dietas com carboidratos não fibrosos e com alto nível proteico provocarem a intensificação ruminal para eliminação dos resíduos tóxicos a população microbiana.

Em relação a estabilidade do leite, no estudo referente a associação do tipo de processamento do milho, degradabilidade ruminal da proteína e dia de troca da dieta foi possível perceber que o pH, a concentração de cálcio iônico e a estabilidade térmica já apresentaram variações a partir do 2º dia de troca da dieta. Mas, a estabilidade térmica não foi modificada pelos fatores. Entretanto, no estudo utilizando fonte de carboidratos não fibrosos e aditivos, nenhum dos indicadores de estabilidade foi alterado pelos fatores.

Os resultados indicaram que houve a tentativa dos animais em amenizar os possíveis distúrbios digestivos induzidos pelo fornecimento de carboidratos altamente fermentáveis (milho floculado) no rúmen por meio do aumento do tempo de ruminação e tendência de aumento na ingestão de água.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, A. S. **Leite instável não ácido e propriedades físico-químicas do leite de vacas Jersey**. 2008. 123 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2008.
- AIELLO, R. J; ARMENTANO, L. E. Gluconeogenesis in goat hepatocytes is affected by calcium, ammonia and other key metabolites but not primarily through cytosolic redox state. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 1, p. 193 – 201, 1987.
- ALLEN, M. S. Physical constraints on voluntary intake of forage by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 3063 – 3075. 1996.
- ALLEN, M. S; BRADFORD, B. J; OBA, M. Board-invited review: the hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 5, p. 3317 – 3334, 2009.
- ALLEN, M. S; KNOWLTON, K. F. Non-structural carbohydrates important for ruminants. *Feedstuffs*, v.17, p.13 – 15, 1995.
- ALLISON, M. J. Biosynthesis of aminoacids by ruminal microorganisms. **Journal of Animal Science**, v. 29, p. 797-807, 1969.
- ALLISON, M. J.; BRYANT, M. P. Volatile fatty acids growth factor for cellulolytic cocci of bovine rumen. **Science**, v. 129, p. 474, 1958.
- ALLISON, M. J.; BRYANT, M. P.; DOESTCH, R. N. Studies on the metabolic function of branched-chain volatile fatty acids, growth factors for ruminococci. I. Incorporation of isovalerate into leucine. **Journal of Bacteriology**, v. 83, p. 523, 1962.
- ALVES, D. D. Nutrição Aminoacídica de Bovinos. **Revista Brasileira de Agrociências**, v. 10, n. 3, p. 265 – 271, 2004.
- ANDRIGUETTO, J. M; PERLY, L; MINARDI, I; GEMAEL, A; FLEMMING, J. S; SOUZA, G. A.; BONA FILHO, A. **Nutrição Animal**. 4 ed., v. 1., p. 395, 1983.
- ANTUNES, R. C; RODRIGUEZ, N. M; SALIBA, E. O. S. Metabolismo de carboidratos não estruturais. In: BERCHIELLI, T. T; PIRES, A. V; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, p.239-260, 2011.
- BANKS, E. Behavioral research to answer questions about animal welfare. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.54, n.2, p.434-455, 1982.
- BARBOSA, R. S; RIBEIRO, M. E. R; SCHAFHÄUSER JR, J; FISCHER, V; STUMPF JR., W; GOMES, J. F; BONO, G; BARROS, L. E. Efeito do cálcio iônico nas características físicas do LINA. In: 4º Congresso Brasileiro de Qualidade do leite, *Anais...* Porto Alegre, 2010.

BARROS, L. et al. **Variaciones de la leche e Prueba del Alcohol**. Departamento Rumiantes, Facultad de Veterinaria. UruguayanBuiatricsJourney – Abstracts, 28°, Punta del Este, Uruguay, 2000.

BARROS, L.; DENIS, N.; GONZÁLEZ, O.; GALAIN, C. Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. **Revista PrácticasVeterinarias**, Florida, v. 9, p. 315-318, 1999.

BEAUCHEMIN, K. A; ERIKSEN, L; NORGAARD, P; RODE, L. M. Short Communication: Salivary Secretion During Meals in Lactating Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2077 – 2081, 2008.

BEAUCHEMIN, K. A; MCALLISTER, T. A; DONG, Y.; et al. Effects of mastication on digestion of whole cereal grains by cattle. **Journal of Animal Science**, v.72, n.2, p.236-246, 1994.

BEAUCHEMIN, K. A; McALLISTER, T. A; DONG, Y; BI, FARR, CHENG, K. J. Effects of mastication on digestion of whole cereal grains by cattle. **Journal of Animal Science**, v.72, n.2, p.236-246, 1994.

BELIBASAKIS, N. G.; TSIRGOGIANNI, D. Effects of dried citrus pulp on milk yield, milk composition and blood components of dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.60, n.1-2, p. 87-92, 1996.

BEN-GHEDALIA, D; YOSEF, E; MIRON, J; EST, Y. The effects of starch- and pectin-rich diets on quantitative aspects of digestion in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.24, p.289–298, 1989.

BERCHIELLI, T. T; PIRES, A. V; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**.Jaboticabal: Funep, v.2, 583p. 2006.

BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews*, Bethesda, v. 70, n. 2, p. 567-590, 1990.

BOSCH, M.W; LAMMERS-WIENHOVENA, S. C. W; BANGMAA, G. A; BOERB, H; VAN ADRICHEMA, P. W. M. Influence of stage of maturity of grass silages on digestion processes in dairy cows. 2. Rumen contents, passage rates, distribution of rumen and faecal particles and mastication activity. **Livestock Production Science**, v.32, p. 265 – 281, 1992.

BRADFORD, B. J.; ALLEN, M. S. Depression in feed intake by a highly fermentable diet is related to plasma insulin concentration and insulin response to glucose infusion. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 8, p. 3838 – 3845, 2007.

BRYANT, M. P. Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. **Federation Proceedings**, v. 32, p. 1809-1813, 1973.

BRYANT, M. P.; DOESTCH, R. N. Factors necessary for the growth of *Bacteroids succinogenes* in the volatile acid fraction of the rumen fluid. **Journal of Dairy Science**, v. 38, n. 4, p. 340-350, 1955.

BRYANT, M. P.; ROBINSON, I. M. Some nutritional characteristics of predominant culturable ruminal bacteria. **Journal of Bacteriology**, v. 84, p. 605, 1962.

BULL, L.S., BAUMGARDT, B. R., CLAURY, M., Influence of caloric density on energy intake by dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.6, n.59, p.1078-1086, 1976.

CAMARGO, A.C. **Comportamento de vacas da raça holandesa em um confinamento do tipo "free stall", no Brasil central**. Piracicaba: USP-ESALQ. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), p. 146, 1988.

CARPENTER, K. J. A Short History of Nutritional Science: Part 1, **Journal of Nutrition**, v. 133, p. 638 – 645, 2003.

CASTLE, M. E; WATKINS, P. **Modern milk production**. Cow behaviour and health, p. 263 – 280, 1979.

CHAVEZ, M. S; NEGRI, L. M; TAVERNA, M. A; CUATRÍN, A. Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. **Journal of Dairy Research**, London, v. 71, n. 2, p. 201-206, 2004.

CLARINDO, R. L; SNTOS, F. A. P; BITTAR, C. M. M; IMAIZUMI, H; LIMA, N, V, A; PEREIRA, E. M. Avaliação de fontes energéticas e protéicas na dieta de bovinos confinados em fase de terminação. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 902 – 910, 2008.

CORREA, C. E. S; SHAVES, R. D; PEREIRA, M. N; LAUER, J. G; KOHN, K. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 85, n. 11, p. 3008 - 3012, 2002.

COSTA, M. J. R. P; MESQUITA, J. C. JUNQUEIRA FILHO, A. A. **Comportamento de vacas holandesas em pastagens**. In: Encontro Paulista de Etologia, 1, Jaboticabal, 1983, *Anais ...* Jaboticabal: UNESP, FCAVJ, p. 251, 1983.

COSTA, N. L. Utilização da soja na alimentação de ruminantes. Newton de Lucena Costa, 2005.

DEFOOR, P. J; BROWN, M. S; OWENS, F. N. Reconstitution of grain sorghum for ruminants. In GRAIN PROCESSING SYMPOSIUM, n. 1, p. 93 - 98, 2006.

DEHORITY, B. A.; SCOTT, H. W.; KOWALUK, P. Volatile fatty acid requirements of cellulolytic rumen bacteria. **Journal of Bacteriology**, v. 94, p. 537, 1967.

DEVLIN, R. M. **Plant physiology**. 3rd ed. New York: D. Van Nostrand Company, p. 600, 1975.

DONATELE, D.M.; VIEIRA, L.F.P.; FOLLY, M.M. Relação do teste de Alizarol a 72% (v/v) em leite “in natura” de vaca com acidez e contagem de células somáticas: análise microbiológica. **Revista Higiene Alimentar**, v.7, n.110, 2003.

DULPHY, J. P; REMOND, B; THERIEZ, M. **Ingestive behaviour and related activities in ruminants**. In: RUCKEBUSH, Y., THIVEND, P. (Eds.). *Digestive physiology and metabolism in ruminants*. Lancaster: MTP. p.103-122, 1980.

EMERY, R. S; LIESMAN, J. M; HERDT, T. H. Metabolism of long chain fatty acids by ruminant liver. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 122, n. 3, p. 832 – 837, 1992.

ENSMINGER, M. E; OLDFIELD, J. E; HEINEMANN, W. W. Feeds and nutrition. 2ª ed. California: Ensminger Publishing Company, 1990.

FAHEY JR, G. C; BERGER, L. L. Los Carbohidratos en la nutrición de los ruminantes. In: Church, D.C. (Ed.). **El ruminante: fisiología digestiva y nutrición**, p. 305-337, 1993.

FARFÁN, J. A. *Química de Proteínas Aplicada à Ciência e Tecnologia dos Alimentos*. 2 ed.. Campinas: Unicamp, p. 134, 1994.

FELIX, A.; COOK, R. M.; HUBER, J. T. Effect of feeding isoacids with urea on growth and nutrient utilization by lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 63, p. 1943-1946, 1980.

FISCHER, V; DESWYSEN, A. G; DUTILLEUL, P; DE BOEVER, J. Padrões da distribuição nictemeral do comportamento ingestivo de vacas leiteiras, ao início e ao final da lactação, alimentadas com dieta à base de silagem de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 5, p. 2129 – 2138, 2002.

FISCHER, V; DESWYSEN, A. G; DÈSPRES, L. Comportamento ingestivo de ovinos recebendo dieta à base de feno durante um período de seis meses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, p. 1032 – 1038, 1997.

FORBES, J.M. Integration of regulatory signals controlling forage intake in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.74, n.12, p.3029-3035, 1996.

FORBES, J.M. **Voluntary food intake and diet selection in farm animals**. Wallingford: CAB, p. 532. 1995.

FRASER, A. F; BROOM, D. M. **Farm Animal Behaviour and Welfare**, 3 ed. p. 437, 1990.
FRENCH, D. Chemical and physical properties of starch. **Journal of Animal Science**, v. 37, p. 1048 – 1061, 1973.

FRUSCALSO, V; STUMPF, M.T; MCMANUS, C. M; FISCHER, V. Feeding restriction impairs milk yield and physicochemical properties rendering it less suitable for sale. **Scientia Agricola** v.70, n.4, p.237-241, 2013.

FURLAN, R. L; MACARI, M; FARIA FILHO, D. E. *Nutrição de Ruminantes: Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal*. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, p. 1 – 27, 2011.

GABBI, A.M. **Características do leite bovino produzido em sistemas de alimentação e de produção com diferentes aportes tecnológicos**. 2013. 139 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

GOULARTE, S. R.; ÍTAVO, L. C. V; SANTOS, G. T.; ÍTAVO, C.C.B.F.; OLIVEIRA, L. C. S; FAVARO, S. P; DIAS, A. M; TORRES JUNIOR, R.A.A. BITTAR, C. M. M. Ácidos graxos voláteis no rúmen de vacas alimentadas com diferentes teores de concentrado na dieta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 6, p. 1479 - 1486, 2011.

GRANT, R. J.; ALBRIGHT, J. L. Effect of animal grouping on feeding behavior and intake of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 1, p. 156-163, 2001.

GROVUM, W.L. Apetito, sapidez y control del consumo de alimentos. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **EL Rumiante: fisiología digestiva y nutrición**. Zaragoza. Editorial Acribia, p.225-241, 1993.

GUIMARÃES, T. P; PERON, H. J. M. C; SILVA, D. B; MOREIRA, K. K. G; NEVES NETO, J. T; SIVA, B. M. N; SANTOS, F. C. Exigências de proteína para bovinos de corte: Revisão de literatura. **Multi Science Journal**, v. 1, n. 1, p. 90 – 99. 2015.

GUO, M., Z. WANG, Z. LI, J. QU, L. JIN, P. KINDSTEDT. Ethanol stability of goat's milk. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 57-6, 1998.

HALE, W. H. Influence of processing on the utilization of grain (starch) by ruminants. **Journal of Animal Science**, v.37, p.1075-1080, 1973.

HALL, M. B. Challenges with non fiber carbohydrate methods. **Journal of Animal Science**. v. 81, p. 3226-3232, 2003.

HALL, M.B. Pectin: the structural, non-structural carbohydrate. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURES, *Proceedings...* New York: Cornell University, p. 29 - 36, 1994.

HARMON, D.L.; McLEOD, K.R. Glucose uptake and regulation by intestinal tissues: implications and whole-body energetics. **Journal of Animal Science**, v.79, p.E59-E72, 2001.

HARPER, H. A; RODWELL, V. W; MAYES, P. A. Manual de química fisiológica. 5 ed, p. 736, 1982..

HEDLUND, L; ROLLS, J. Behavior of lactation dairy cows during total confinamento. **Journal Dairy Science**, v. 60, p. 1807 – 1812, 1977.

HEMSLEY, J. A.; MOIR, R. J. The influence of higher volatile fatty acids on the intake of urea-supplemented low quality cereal hay by sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 14, p. 509, 1963.

HENRIQUE, W; BOSE, M. L. V. Utilização de resíduos culturais e de beneficiamento de na alimentação de bovinos: Milho e Sorgo. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 6, 1995. Piracicaba, SP. *Anais...* Piracicaba: FEALQ, p. 153 - 169, 1995.

HENRIQUE, W; LEME, P. R; LANNA, D. P. D. Replacement of starch for pectin in diet with different concentrate levels. 1. Animal performance and carcass characteristics. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, p.1206–1211, 1998.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A Review. *Carbohydrate Polymers*, v. 45, n. 3, p. 253- 267, 2001.

HUNGATE, R. E.; DYER, I. A. Effects of valeric and isovaleric acids on straw utilization by steers. **Journal of Animal Science**, v. 15, p. 485, 1956.

HUTJENS, M. F. Feed additives. In: SNIFFEN, C.J.; HERDT, T.H.(eds.) *The veterinary clinics of north america. Proceedings...* p. 525, 1991.

JUNG, H. G; DEETZ, D. A. Cell wall lignification and degradability. In: JUNG, H.G., BUXTON, D.R., HATIFIELD, R.D., RAPH, J. **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison : American Society of Agronomy, Crop Sci. Society of America, Soil Sci. Society of America, p.315-346, 1993.

KREIKEMEIER, K.K.; HARMON, D.L.; BRANDT Jr; AVERY, T. B; JOHNSON D. E. Small intestinal starch digestion in steers: effect of various levels of abomasal glucose, corn starch and corn dextrin infusion on small intestinal disappearance and net glucose absorption. **Journal of Animal Science**, v.69, p.328-338, 1991.

KENNEDY, P. M. Particle dynamics. In: DIJKSTRA, J; FORBES, J. M; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminants digestion and metabolism**. Wallingford: CABI Publishing, p.123 – 156, 2005.

KOLLING, G.J. **Influência da mastite na qualidade do leite e leite instável não ácido em diferentes quartos mamários**. Porto Alegre-RS, 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Veterinária, UFRGS, 2012.

KONONOFF, P. J.; HEINRICHS, A. J.; LEHMAN, H. A. The effect of corn silage particle size on eating behavior, chewing activities, and rumen fermentation in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.3343 – 3353, 2003.

KOTARSKI, K. K; WANISHA, R. D; THURN, K. K. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 122, n. 1, p. 178 – 190, 1992.

KOTARSKI, S. F; WANISKA, R. D; THURN, K. K. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. **Journal Nutrition**, v.122, n.1, p.178-190, 1992.

KOZLOSKI, G. V. *Bioquímica dos ruminantes*. 2.ed. – Santa Maria: Ed. da UFSM, p. 216, 2009.

KROHN, C. C; MUNKSGAARD, L. Behavior of Dairy Cows kept in Extensive (Loose housing/ pasture) or intensive (tie stall) environment. 2. Lying and lying down behaviour. **Applied Animal Behavior Science**, v. 37, p. 1 - 6, 1993.

LASSITER, C. A.; EMERY, R. S.; DUNCAN, C. W. The effect of valeric acid and a combination of valeric and isovaleric acids on the performance of milking cows **Journal of Animal Science**, v. 17, p. 358, 1958b.

LEAL, M. L. R; MORI; ORTOLANI, E. L. Estudo da capacidade alcalinizante de tampões metabolizáveis em bovinos sadios. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.4, p.965-970, 2007.

LEHNINGER, A. L; NELSON, D. L; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 2 ed. Tradução: Arnaldo Antônio Simões e Wilson Roberto Navega Lodi. São Paulo: Sarvier, p. 839, 1995.

LENG, R. A. Formation and production of volatile fatty acids in the rumen. In: PHILLIPSON, A. T. (Ed.). **Physiology of digestion and metabolism in the ruminant**, p. 406 - 421, 1970.

LENG, R. A. Formation and production of volatile fatty acids in the rumen. In: PHILLIPSON, A. T. (Ed.). **Physiology of digestion and metabolism in the ruminant**, p. 406-421, 1970.

LEONARDI, C; ARMENTANO, L. E. Effect of quantity, quality and length of alfalfa hay on selective consumption by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 557 – 564, 2003.

LEWIS, M.J. The measurement and significance of ionic calcium in milk – review. International **Journal of Dairy Technology**, v.64, n.1, p.1-13, 2011.

MACHADO, S.C. **Fatores que afetam a estabilidade térmica do leite bovino**. 2010. 132 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

MARQUES, L. T; FISCHER, V; ZANELA, M. B; RIBEIRO, M. E. R; STUMPF JUNIOR, W; RODRIGUES, C. M. Produção leiteira, composição do leite e perfil bioquímico sanguíneo de vacas lactantes sob suplementação com sal aniônico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.5, p.1088-1094, 2011.

MARQUES, L. T; FISCHER, V; ZANELA, M. Z; RIBEIRO, M. E. R; STUMPF JUNIOR, W; MANZKE. Fornecimento de suplementos com diferentes níveis de energia e proteína para vacas Jersey e seus efeitos sobre a instabilidade do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2724 -2730, 2010.

MARQUES, L. T; FISCHER, V; ZANELLA, M.B; STUMPF JUNIOR, W; RIBEIRO, M. E. R; BARROS, L; RODRIGUES, C. M; PETERS, M. D. P. Suplementação de vacas holandesa em estágio avançado de lactação. **Ciência Rural**, v.40, n.6, p.1392-1398, 2010.

MARQUES, L. T; ZANELA, M. B; RIBEIRO, M. E. R; STUMPF JUNIOR, W; FISCHER, V. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n.1, p. 91-97, 2007.

McALLISTER T. A; RODE L. M; MAJOR D. J; CHUNG K. J; BUCHAMAN J. G. Effect of ruminal microbial colonization on cereal grain digestion. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 571, 1990.

McKINNEY, L. J. Grain processing: particle size reduction methods. In: CATTLE GRAIN PROCESSING SYMPOSIUM, n. 1, p. 42 - 45, 2006.

MERTENS, D. Formulating Dairy Rations: Using fiber and carbohydrate analyses to formulate dairy rations. In: INFORMATION CONFERENCE WITH DAIRY AND FORAGE INDUSTRIES, 1996. Wisconsin. *Processings...* Wisconsin: U. S. **Dairy Forage and Research Center**. p. 81 – 92, 1996.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY, J.F.G.C. (Ed). *Forage quality evaluation and utilization*. Madison: American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science of America. p.450-493, 1994.

MERTENS, D. Nonstructural and structural carbohydrates. In: VAN HORN, H. H; C. J. WILCOX (Eds.). *Large Dairy Herd Management*. Am. Dairy Science Association, Champaign, IL, p. 219 – 235, 1992.

MOLINA, L. H. et al. Correlation between heat stability and alcohol test of milks at a milk collection center. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v 2. 2001.

MONTY JUNIOR, D.E; GARBARENO, J. L. Behavioral and physiologic responses of holstein-frisian cows to high environmental temperatures and artificial cooling in Arizona. **American Journal of Veterinary Research**, Scatburg, v.39, n.5, p.877- 882, 1978.

MOURÃO, R. C; PANCOTI, C. G; MOURA, A. M; FERREIRA, A. L; BORGES, A. L. C. C; SILVA, R. R. **Processamento do milho na alimentação de ruminantes**. PUBVET, v. 6, n. 5, 2012.

MOURÃO, R. C; PANCOTI, C. G; MOURA, A. M; FERREIRA, A. L; BORGES, A. L. C. C; SILVA, R. R. Processamento do milho na alimentação de ruminantes. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 5, Ed. 192, Art. 1292, 2012.

MULLER, C. J. C; BOTH, J. A; SMITH, W. A. Effect of shade on various parameters of Friesian cows in a Mediterranean climate in South Africa. 3. Behavior. **South African Journal Animal Science**, v. 24, p. 61 – 66, 1994.

NAGAJARA, T. G; NEWBOLD, C. J; VAN NEVEL, C. J. Manipulation of ruminal fermentation, In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds). **The rumen microbial ecosystem**. Blackie Academic and Professional, p. 523, 1997.

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

NEGRI, L; HAVEZ, M; TAVERNA, M. **Factores que afectan la estabilidad térmica y la prueba de alcohol en leche cruda de calidad higiénica adecuada**. Informe técnico final Del proyecto. INTA EEA / Rafaela - INTI CITIL Rafaela, 2001.

NOCEK, J. E; TAMMING, S. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 3, p. 3598 - 3629, 1991.

NOCEK, J. E; TAMMINGA, S. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effects on milk yield and composition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p 3598, 1991.

NUSSIO, C. M. B; SANTOS, F. A. P; PIRES, A. V; SIMAS, J. M. C. ZOPOLLATTO. Fontes de amido de diferentes degradabilidades e sua substituição parcial por polpa de citrus em dietas para vacas leiteiras. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 4, p. 1079 - 1086, 2002.

OLIVEIRA, V. S; SANTANA NETO, J. A; VALENÇA, R. L; SILVA, C. D; SANTOS, A. C. P. Carboidratos fibrosos e não fibrosos na dieta de ruminantes e seus efeitos sobre a microbiota ruminal. **Veterinária Notícias**, v. 22, n. 2, p. 1 - 19, 2016.

OLIVEIRA, C.A.F.; LOPES, L.C.; FRANCO, R.C.; CORASSIN, C.H. Composição e características físicoquímicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.12, n.2, p.508-515, 2011.

OWENS, F. N.; GOETSCH, A. L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D. C. (Ed.). **The Ruminant animal digestive physiology and nutrition**. 5.ed, p. 145-171, 1993

OWENS, F. N; ZINN, R. A. Corn grain for cattle: influence of processing on site and extent of digestion. In: SOUTHWEST NUTRITION CONFERENCE, 2005. Nebraska. *Proceedings...* Nebraska, p. 86 - 112, 2005.

OWENS, F. N; ZINN, R. A; KIM, Y. K. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. **Journal of Animal Science**, v.63 p.1634, 1986.

OWENS, F. N; ZINN, R. A; KIM, Y. K. Limits to starch digeston in the ruminant small intestine. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 63, p. 1634 - 1648, 1986.

OWENS, F; ZINN, R. A. Corn Grain for Cattle: Influence of Processing on Site and Extent of Digestion. *Proc. Southwest Nutr. Conf. University of Arizona, Tucson*, p. 86 – 112 2005.

PEDROSO, A. M; CARVALHO, M. P. Polpa cítrica e farelo de glúten de milho. In: PEDROSO, A. M.; **Treinamento on line: Subprodutos para ruminantes: estratégias para reduzir o custo de alimentação**. Piracicaba: AgriPoint; v.2, p. 1-35, 2006.

PEREIRA, L. G. R.; ANTUNES, R. C. O milho na alimentação de gado de leite. In: IV Simpósio Mineiro de Nutrição de Gado de Leite. Belo Horizonte, MG: Escola de Veterinária, UFMG, p. 49-70, 2007.

PERERA, K. S; GWAZDAUSKAS, F. C; PEARSON, R. E. Effect of season and stage of lactation on performance of Holstein. **Journal Dairy Science**, v. 69, p. 228 – 236, 1986.

PEREIRA, E. S; MIZUBUTI, I. Y; RIBEIRO, E. L. A; VILLARROEL, A. B. S; PIMENTEL, P. G. Consumo, digestibilidade aparente dos nutrientes e comportamento ingestivo de bovinos da raça Holandesa alimentados com dietas contendo feno de capim-tifton 85 com diversos tamanhos de partícula. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 88.

PERES, M. S. **Processamento do grão de milho do tipo *flint* ou duro e adequação proteica em rações para bovinos em terminação - desempenho animal e digestibilidade**

do amido. 2011. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2011.

PONCE, P. C; HERNÁNDEZ, R. Efecto de tres tipos de dieta sobre la aparición de transtornos metabólicos y su relación con alteraciones en la composición de la leche en vacas Holstein Friesian. **Zootecnia Tropical**, v.23, n.3, p.295-310, 2005.

POORE, M. H; MOORE, J. A; ECK, T. P; SWINGLE, R. S; THEURER, C. B. Effect of fiber source and ruminal starch degradability on site and extent of digestion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.2244-2253, 1993.

RAY, D.E; ROUBICEK, C.B. Behavioral of feedlot cattle during two seasons. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.33, n.1, p.72-76, 1971.

RODWELL, V. W. Amino acids. In: MURRAY, R. K; GRANNER, D. K; MAYES, P. A; RODWELL, V. W. *Harper's biochemistry*. 24 ed. Stamford: Appleton & Lange, p. 868, 1996.

ROMAN-PONCE, H., THATCHER, W. W. , BUFFINGTON, D. E., et al. Physiological and production responses of dairy cattle to shade structure in a subtropical environment. **Journal of Dairy Science**, v.60, p.424-35, 1977

ROONEY, W. L; PFLUGFELDER, R. L. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. **Journal Animal Science**, v.63, n.1, p.1607- 1623, 1986.

RUSSEL, J. B; CONNOR, J. D; FOX, D. C. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal Fermentation. **Journal Animal Science**, v.70, p. 3553 - 3561, 1992.

RUSSELL, J. B; SNIFFEN, C. J. Effect of carbon-4 and carbon-5 volatile fatty acids on growth of mixed rumen bacteria *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 987- 994, 1984.

SALISBURY, F. B; ROSS, C. W. **Plant physiology**. 4thed. Belmont: Wadsworth Publishing Company, p. 336, 1991.

SANTOS, F. A. P. *Nutrição Protéica de Bovinos*. Piracicaba: ESALQ/USP, v. 1, 2005.

SANTOS, F. A. P; PEDROSO, A. M. *Nutrição de Ruminantes: Metabolismo de proteínas*. Jaboticabal: Funep, p. 583, 2006.

SANTOS, P. F. A; MENEZES, J. M. P; CORRÊA, J. M; PIRES, A. V. Processamento do grão de milho e sua substituição parcial por polpa de citrus peletizada sobre o desempenho, digestibilidade de nutrientes e parâmetros sanguíneos em vacas leiteiras. **Acta Science**, v. 23, p. 923 - 931, 2001.

SHULTZ, T. A. Weather and shade effects on cow corral activities. **Journal Dairy Science**, v. 67, p. 868 – 873, 1983.

SIENKO, M. J; PLANE, R. A. *Química*. 7 ed. Tradução de Ernesto Giesbrecht, Lélia Mennucci, Viktória K. L. Osório e Minaco K. Kuya. São Paulo: Companhia Editora Nacional, p. 605, 1976.

SILVA, P. R. C. **Aspectos do consumo em ruminantes sob pastejo**, p. 18, 1999.

STUMPF, M. T; FISCHER, V; MCMANUS, C. M; KOLLING, G. J; ZANELA, M. B; SANTOS, C. S; ABREU, A. S; MONTAGNER, P. Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell tight junctions and reduces ethanol stability of milk. **Animal**, v. 7, p.1137-1142, 2013.

SUTTON, J. D; BINES, J. A; MORATI, S. V. NAPPER, D. J. GIVENS, D. J. A comparison of starch and fibrous concentrates for milk production, energy utilization and hay intake by Friesian cows. **Journal of Agricultural Science**, v. 109, p. 375 - 386, 1987.

THEURER, C. B. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. **Journal of Animal Science** v.63, p.1649-1662, 1986.

THEURER, C. B. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v.63, n.4, p.1649 – 1662, 1986.

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

THIAGO, L. R. L. Fatores afetando o consumo e utilização de forrageiras de baixa qualidade por ruminantes: revisão. Brasília: EMBRAPA-DDT, p. 36, 1984.

TSIOULPAS, A., GRANDISON, A.S, LEWIS, M.J. Changes In Physical Properties of bovine milk from the colostrums period to early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 5012-5017, 2007.

VALADARES FILHO, S. C; PINA, D. S. Fermentação Ruminal. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **NUTRIÇÃO DE RUMINANTES**. 2. ed. Jaboticabal: Funep, Cap. 6. p. 161-191, 2011.

VAN GYLSWYK, N. O. The effect of supplementing a low-protein hay on the cellulolytic bacteria in the rumen of sheep and on the digestibility of cellulose and hemicellulose. **The Journal of Agricultural Science**, v. 74, p. 169-180, 1970.

VAN HORN, H. H; MARSHALL, S. P. WILCOX, C. J. RANDER, P. F; WING, J. M. Complete rations for dairy cattle. III. Evaluation of protein percent and quality and citrus pulp-corn substitutions. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.58, n.8, p.1101-1108, 1975.

VAN SOEST, P. J, ROBERTSON, J. B, LEWIS, B. A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P. J. Cell Wall Matrix Interactions and Degradation – Session Synopsis. In: JUNG, H. G. et al (Eds.). **Forage Cell Wall Structure and Digestibility**. Madison: American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society, Inc., p, 377-396, 1993.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, p. 476p, 1994.

VARGA, A. G; KOLVER, E. S. Microbial and animal limitations to fiber digestion and utilization. **Journal Nutrition**, v.127, p. 819 - 823, 1997.

VASILATOS, R; WANGSNESS, P. J. Feeding behavior of lactation dairy cows as measured by time-lapse photography. **Journal Dairy Science**, v. 63, p. 412 – 416, 1980.

WANG, T. L; BOGRACHEVA, T. Y; HENDLEY, C. L. Starch: as simple as A, B, C? **Journal Experimental Botanical**, v. 49, p. 481 – 502, 1998.

WATSON, S. A. **Structure and Composition. Corn: Chemistry and Technology**. S. A. Watson; E. R. Ramstad, ed. American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, MN, p. 53 - 92, 1987.

WOOLFORD, M.K. **The silage fermentation**. New York: Marcel Dekker, p. 322, 1984.

ZANELA, M. B; RIBEIRO, M. E. R; FISCHER, V. **Leite instável não ácido (LINA): do campo a indústria**. VI Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, 2015.

ZANELA, M. B; FISCHER, V; RIBEIRO, M. E. R; BARBOSA, R. S; MARQUES, L. T; STUMPF JUNIOR, W; ZANELA, C. Leite instável não-ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.835-840, 2006.

ZANELA, M. B. **Caracterização do leite produzido no Rio Grande do Sul, ocorrência e indução experimental do leite instável não ácido (LINA)**. 2004. 150 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.