

**BEATRIZ CONTE VENTURELLI**

**Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras no terço final de lactação**

---

**Pirassununga**

**2011**

BEATRIZ CONTE VENTURELLI

Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras no terço final de lactação

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

**Departamento:**

Nutrição e Produção Animal.

**Área de Concentração:**

Nutrição e Produção Animal

**Orientador:**

Prof. Dr. Francisco Palma Rennó

Pirassununga

2011

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

Gado de leite. Fonte de gordura. Produção e composição do leite. Perfil de ácidos graxos

#### DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

T.2517  
FMVZ

Venturelli, Beatriz Conte

Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras no terço final de lactação / Beatriz Conte Venturelli. -- 2011.  
103 f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2011.

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

Orientador: Prof. Dr. Francisco Palma Rennó.

1. Gado de leite. 2. Fonte de gordura. 3. Produção e composição do leite.  
4. Perfil de ácidos graxos. I. Título.

---

## ERRATA

VENTURELLI, B.C. **Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras no terço final de lactação.** 2011. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

Página	Parágrafo	Onde se lê	Leia-se
Folha de Avaliação	2º	Utilização de grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras no final de lactação	Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras no terço final de lactação

---

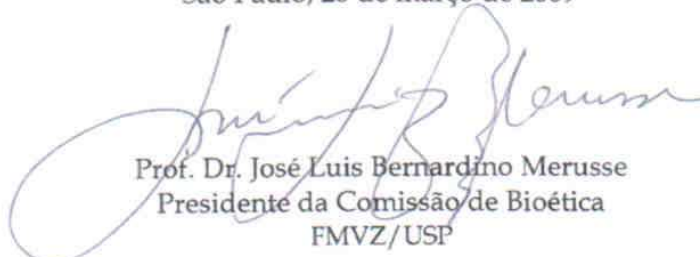


## CERTIFICADO

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

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

São Paulo, 20 de março de 2009



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

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: VENTURELLI, Beatriz Conte

Título: Utilização de grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras no final de lactação

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.: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

*Dedico essa dissertação a todos que me apoiaram para concluir mais essa etapa da minha vida.*

*Á meus pais, Fátima e Carlos, isso é uma prova que trabalho duro proporciona uma vitória e ambos me ensinaram o valor do trabalho e estudo, essa é uma vitória nossa!*

*Á meus padrinhos, Maria Geraldina e Silvio, muito obrigado pelo apoio sempre, vocês puderam proporcionar que isso ocorresse sem contestar nenhum momento, dedico minhas esperanças a vocês!*

*Á minha tia, Maria de Lourdes, você é muito importante para mim, me ajudou muito e me mostrou como atravessar e superar todas as pedras do caminho, muito obrigada!*

## AGRADECIMENTOS

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

Ao meu orientador Prof. Dr. Francisco Palma Rennó pela convivência de 4 anos desde a iniciação científica até minha formação na graduação e agora a orientação de mestrado. Nesses anos, o senhor contribuiu com meu crescimento profissional e pessoal. Sua orientação e sabedoria me tornaram uma profissional competente e madura para lidar com os problemas que há por vir. Obrigada pelas oportunidades e as portas que abriu. Foi gratificante poder participar e contribuir para seu crescimento nesta Universidade.

Ao Antônio Carlos da Silva Júnior, agradeço toda força e admiração que você me proporcionou. Tenho muito orgulho de ter passado essa etapa da minha vida contigo, vencendo os obstáculos e fortalecendo nosso amor. Aos seus familiares, em especial, Eli Aparecida (Mãe), Antônio Carlos (pai) e Thiago (Irmão), pelo carinho e apoio nesse período todo de mestrado.

À Universidade de São Paulo, a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, e ao Departamento de Nutrição e Produção Animal por me receberem e ajudarem a realizar meus sonhos.

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

As vacas de leite que fizeram eu me apaixonar por essa profissão. Obrigada pelo tempo e pela viabilidade de execução do projeto. Estarão sempre no meu coração.

Ao grupo de pesquisa: Jovem pesquisador – Flávio Garcia; Pós-doutoranda – Taíssa; Doutorandos – José Esler, Jefferson, Rafael, Lenita, Vitor e Elmeson; Mestrandos – Ana



Paula, Mayara, Gustavo, Rodrigo e Rodolfo; Iniciação científica – Eduardo, Karin, Renata, Thiago, Vanessa, Bruna e Caio; Estagiários – Thiago (UFU), Késsia, Eduarda, Fernando, Fernanda, Cybele e Gustavo. Muito obrigada por fazerem parte da conclusão desta dissertação com trabalho, paciência e ensinamentos.

Agradeço em especial Gustavo e Rodrigo que contribuíram mais ativamente para a realização deste trabalho. A amizade e ensinamentos do José Esler, muito obrigada por toda sabedoria e por saber escutar nos momentos difíceis.

As amigas de coração Ana Paula e Mayara. Formamos uma equipe, onde pude encontrar conforto para os momentos ruins, boas risadas na hora do aperto e alegria na descontração. Seremos uma família para sempre.

Ao amigo Antônio Carlos Bueno da Silva (Carlinhos) pelo apoio incondicional, conselhos e companheirismo que pude encontrar em Pirassununga. Com você, o serviço foi gratificante, obrigada por mostrar esse lado justo e uma pessoa companheira.

As amigas Erika, Esther e Carolina Imamura muito obrigada por participarem desse caminho comigo. Não esquecendo a Julia que é uma princesinha.

Aos amigos incondicionais: Samantha Valadas, Carolina Parsekian, Adriana Millano, Daniel Furuya, Thiago Côrrea, Pedro Garcia, Rodrigo Melnic, Glauco, Felipe Rocha, Hernani, a turma 71 por ter me acolhido e a todos os VET USP que estão no meu coração.

A amiga Gabriela pelo pouco tempo de convivência já percebi a grande pessoa que é. Muito obrigada pelo apoio na fase final desse trabalho.

Aos amigos da pós-graduação: Larissa, Tácia, Maurício, Eduardo, Laura, Carol Tobias, Tarley, Flávio, Nátaly, Maria Fernanda, Nayara, João Guilherme, Francine, Caio, Pedro, Lara, Tereza, Cláudinha, Marina, Thiago, Juliano, Daniela, Nara, Suzana, Cristina, Juliana Barreiro, Luiz Henrique, Camila, Bruno, Fernanda, Rafael, Iaçanã, Alejandro, Nara, Mariana, Marília, Débora, Mariana, Paula, Camila, Rinaldo, Juliane Diniz, Marina, Bárbara,

Daniela, Bruno, Danilo, Frederich, Rui (VPS), Milton (VRA), Kléber (VRA), Juliane Naves (VRA), Daniela (VRA), Moana (VRA), Henrique (VRA) e Thiago (VRA). Obrigada por participarem de alguma forma.

Aos professores do departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP Luis Felipe, Paulo Mazza, Marcos Veiga, Alexandre Gobesso, Ricardo Albuquerque, Angélica Pereira, Annibal Moretti, Maria de Fátima, Messias, Augusto Gameiro, Romualdo, por todos os ensinamentos e pelo convívio. Aos professores do departamento de Reprodução Animal Ed Hoffman, Rubens e Annelise.

Aos funcionários administrativos do VNP, Paula, Marcos, Alex, Miriam e em especial à Alessandra, a Fábria e ao João Paulo que fazem nosso departamento andar para frente.

Aos professores da FZEA, Arlindo Saran Neto, Catarina e Yves obrigado pela amizade e apoio.

Aos funcionários João, Paulo, Lenon e Carlão do Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite, pela imprescindível ajuda na condução deste experimento.

Ao Ari, Gilson e Everson funcionários do Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP, pelo imprescindível auxílio na realização das análises laboratoriais. Em especial a Simi, nos tornamos boas amigas, muito obrigada pela ajuda, talvez sem isso não poderia ter concluído essa dissertação.

A funcionária do Laboratório de Genoma – Lígia, muito obrigada por nesta última fase me apoiar com muitos conselhos e companhia no laboratório.

À Lucinéia, funcionária do Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP, pelos ensinamentos de laboratório e amizade neste tempo todo.

Aos funcionários do Setor de Bovinocultura de Leite da Coordenadoria do Campus de Pirassununga – CCPS, Srs. José Antônio Coelho, Antônio Carlos Baladore, Edilson José da

Silva, João Paulo Pagotti, José Antônio da Costa, José Antônio da Silva, Luis Tadeu de Oliveira, Valmir Donizetti Botteon e Schimit obrigado pela atenção dispensada e momentos de risada.

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

Aos funcionários da HIGLIMP por aturarem e limparem a sujeira que fazemos.

Aos demais funcionários da CCPS do Campus Administrativo de Pirassununga - Ismael, Tânia, Amélia e Edil obrigado pela grande amizade.

Aos amigos de Pirassununga, Leonardo e Carlos Rodrigo pela amizade.

A todos apenas posso dizer:

*“Encontre felicidade no que faz ou nunca saberá o que é felicidade” (Confúcio)*

*Obrigada!*

**“Quero melhorar em tudo...  
SEMPRE”**

**(Ayrton Senna)**

## RESUMO

VENTURELLI, B.C. **Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras no terço final de lactação.** [Soybean crude in diets of dairy cows in final lactation]. 2011. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes níveis de inclusão de grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras no final de lactação, e seus efeitos sobre o consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes, fermentação ruminal, síntese de proteína microbiana, produção e composição do leite, perfil de ácidos graxos da gordura do leite, concentrações de parâmetros sanguíneos, balanço de energia e nitrogênio, excreção e composição do grão de soja presente nas fezes. Foram utilizadas 16 vacas da raça Holandesa, agrupadas em quatro quadrados latinos balanceados e contemporâneos 4x4, alimentadas com as seguintes rações: 1) Controle (C), composto por ração sem a inclusão de grão de soja; 2) Grão de soja integral 9% (G9), 3) Grão de soja integral 18% (G18), e 4) Grão de soja integral 27% (G27), com a utilização respectivamente, de 9,0, 18,0 e 27% de grão de soja cru e integral na ração, na matéria seca. A produção de leite e o consumo de matéria seca foram mensurados diariamente durante todo o período experimental. As amostras utilizadas para análise da composição do leite foram coletadas no 16<sup>o</sup> dia de cada período experimental, sendo provenientes das duas ordenhas diárias. As amostras de sangue foram coletadas em tubos vacuolizados por punção da veia e/ou artéria coccígea. As amostras de líquido ruminal foram coletadas com a utilização de sonda esofágica três horas após a alimentação matinal. A digestibilidade foi determinada por meio de indicador interno FDAi. Houve redução no consumo de matéria seca e de carboidratos não fibrosos nas vacas suplementadas com a ração G27 em relação às demais rações, que não diferiram entre si. Foi observado efeito linear crescente no consumo de extrato etéreo, onde os animais submetidos à dieta G27 apresentaram maiores valores. Houve diferença na

digestibilidade aparente total dos nutrientes entre as rações experimentais, sendo que a dieta G18 e G27 apresentaram diminuição da digestibilidade dos carboidratos totais, em relação às dietas C e G9. Não houve efeito das rações utilizadas nos valores de pH ruminal. A concentração de nitrogênio amoniacal ruminal foi maior para as vacas que receberam a dieta controle em relação às dietas com grão de soja. Entre as rações utilizadas, a ração G27 resultou em redução da produção de leite e de proteína em kg/dia e aumentou os teores de gordura no leite. No perfil de ácidos graxos do leite houve um aumento da quantidade de ácidos graxos insaturados e no total de C18:0 saturado com aumento da inclusão de grão de soja. As concentrações de colesterol total e HDL foram maiores para as vacas alimentadas com rações contendo grão de soja em relação à ração controle. As rações utilizadas não influenciaram a síntese de proteína microbiana. O balanço de energia foi influenciado pelas dietas experimentais. Com relação à composição das fezes a dieta G27 apresentou porcentagens maiores de proteína e extrato etéreo, e a excreção de grão de soja nas fezes mostrou efeito linear crescente mesmo que a quantidade kg/dia foi baixa, assim à medida que aumentava os níveis de inclusão aumentava a excreção do grão nas fezes. A utilização de até 27% de grão de soja nas rações apresentou alterações sutis no desempenho produtivo e metabolismo de vacas em lactação, sendo o resultado dependente do nível de grão de soja cru e integral adicionado as rações.

Palavras chave: Gado de leite, Fonte de gordura, Produção e composição do leite, Perfil de ácidos graxos

## ABSTRACT

VENTURELLI, B.C. **Soybean crude in feeding of dairy cows in late lactation.** [Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras no terço final de lactação]. 2011. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

This study was carried to evaluate the effects of different levels of crude soybean in feeding of dairy cows in late lactation on intake and nutrients digestibility, ruminal fermentation, microbial protein synthesis, productive performance, fatty acids profile of milk fat, concentrations of blood parameters, balance of energy and nitrogen and excretion and composition of soybean present in faeces. Sixteen Holstein cows, allocated in four latin squares balanced 4x4, fed with the following diets: 1) Control (C), composed of feed without the inclusion of soybean, 2) Soybean 9% (G9), 3) Soybean 18% (G18), and 4) Soybean 27% (G27), using respectively 9.0, 18.0 and 27% of whole soybean in dry matter. Were evaluated daily milk yield and dry matter intake during throughout the experimental period. The samples used for milk composition analysis were collected on the 16<sup>th</sup> day of each period, from total milking. Blood samples were collected with vacuolized tubes from coccygeal vein and/or artery. The samples of ruminal fluid were collected with use of esophageal probe three hours after the morning feeding. The digestibility was determined use of an internal indicator (ADFi). There was observed a decrease in dry matter intake and non-fibrous carbohydrates in cows fed the G27 ration compared to other diets. The extract ether intake has increased linear effect, where the animals submitted to G27 diet presented higher levels. Not was observing difference in apparent total digestibility of the nutrients, although the digestibility of non-fibrous carbohydrates has a decrease in the animals submitted to G27. No were observed effects of diets used in ruminal pH. The ruminal ammonia concentration was higher for cows that received the control diet compared to diets with soybean. Among the ration G24 resulted in decreased of milk yield and protein (kg/day). The levels of fat were affected by fat sources

added to the diet, showing that the soybean as a source of fat does not depress the concentration of fat. We observe a change of profile the fatty acid of milk fat, the proportion of unsaturated fatty acids and C18:0 was higher as they increased the inclusion of soybean on diets. The concentrations of total cholesterol and HDL were higher for cows fed diets containing soybean in relation to the control diet. Also, not were observe effects of diets in microbial protein synthesis. The balance of energy was influenced by experimental diets. The balance of nitrogen not influenced by experimental diets. There excretion of fecal nitrogen was higher for G27 diet. The composition of faeces G27 diet showed larger percentages of protein and fat, and excretion of soybean in the feces showed an increasing linear effect, as well as the increased levels of inclusion of grain increased excretion in the faeces. The use of 27% of soybean in the diet has a subtle alter the productive performance and metabolism in dairy cows.

**Key words:** Dairy cattle, Fat source, Milk yield and composition, Fatty acids.



## LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

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

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

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais.....	54
Tabela 2 -	Composição dos ácidos graxos dos ingredientes.....	54
Tabela 3 -	Composição bromatológica dos concentrados experimentais.....	55
Tabela 4 -	Composição químico bromatológica das rações experimentais.....	56
Tabela 5 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) do consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes em função das rações experimentais.....	71
Tabela 6 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) da composição das fezes em função das rações experimentais.....	74
Tabela 7 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) do consumo e excreção de grão de soja e composição químico-bromatológica do grão de soja nas fezes em função das rações experimentais.....	75
Tabela 8 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) da fermentação ruminal em função das rações experimentais.....	77
Tabela 9 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) da síntese de proteína microbiana em função das rações experimentais.....	80
Tabela 10 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) da produção e composição do leite em função das rações experimentais.....	82
Tabela 11 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) para o perfil de ácidos graxos (g/100g de AG) da gordura do leite de acordo com as rações experimentais.....	85
Tabela 12 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) para o balanço de energia em função das rações experimentais.....	88
Tabela 13 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) para balanço de nitrogênio em função das rações experimentais.....	89
Tabela 14 -	Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) dos metabólitos plasmáticos em função das rações experimentais.....	91

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>20</b>
<b>2</b>	<b>HIPÓTESE</b> .....	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>23</b>
<b>4</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>24</b>
4.1	Fontes de Gordura para vacas leiteiras.....	24
4.2	Grão de Soja na Alimentação de Vacas eiteiras.....	26
4.3	Consumo de Matéria Seca.....	32
4.4	Digestibilidade Aparente Total dos Nutrientes .....	35
4.5	Fermentação Ruminal .....	36
4.6	Síntese de Proteína Microbiana.....	40
4.7	Produção e Composição do Leite.....	41
4.8	Perfil de Ácidos Graxos do Leite .....	45
4.9	Parâmetros Sanguíneos .....	49
<b>5</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>53</b>
5.1	Local, Instalações e Animais.....	53
5.2	Rações Experimentais .....	53
5.3	Análise de Alimentos .....	57
5.4	Digestibilidade Aparente Total .....	58
5.5	Excreção de Grão de Soja nas Fezes.....	59
5.6	Balanço de Energia .....	60
5.7	Balanço de Nitrogênio.....	61
5.8	Fermentação Ruminal .....	63
5.9	Síntese de Proteína Microbiana.....	64
5.10	Produção e Composição do Leite.....	66
5.11	Perfil de Ácidos Graxos do Leite .....	67
5.12	Parâmetros Sanguíneos .....	68
5.13	Avaliação do Escore de Condição Corporal e Peso Corporal.....	69
5.14	Análises Estatísticas .....	69
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>70</b>

6.1	Consumo e Digestibilidade Aparente Total .....	70
6.2	Grão de Soja nas Fezes .....	73
6.3	Fermentação Ruminal .....	76
6.4	Síntese de Proteína Microbiana.....	79
6.5	Produção e Composição do Leite.....	81
6.6	Perfil de Ácidos Graxos no Leite .....	83
6.7	Balanço de Energia .....	87
6.8	Balanço de Nitrogênio.....	88
6.9	Parâmetros Sanguíneos .....	90
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>93</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>94</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de fontes de gordura na alimentação de vacas leiteiras tem sido muito utilizada por proporcionar uma maior demanda energética, melhorar a eficiência energética de produção de leite, conter ácidos graxos essenciais e melhorar a absorção de compostos lipossolúveis. O consumo de energia tornou-se um fator limitante para vacas leiteiras diante ao melhoramento genético, pois esses animais têm uma maior demanda que a capacidade de energia da dieta não é suficiente para suprir, resultando em redução do desempenho produtivo e saúde destes animais (HARVATINE e ALLEN, 2006).

As fontes de gordura mais comuns utilizadas na alimentação de rebanhos leiteiros possuem variação no número de carbonos dos ácidos graxos sendo de 16 a 18, variando também o grau de saturação e de esterificação, sendo que as mais comuns utilizadas nas rações de vacas leiteiras de origem vegetal: óleos, sementes de oleaginosas *in natura* ou extrusadas e farelos; ocorre também a utilização de fontes sintéticas de gordura como os ácidos graxos peletizados e sais de cálcio de ácidos graxos. Estas fontes variam em características físicas e químicas que afetam a sua digestibilidade, bem como os efeitos associados sobre o consumo de matéria seca (ALLEN, 2000).

A oscilação nos preços das *commodities* agrícolas, como milho e o farelo de soja faz com que o produtor busque um alimento de qualidade com vantagem econômica, para melhorar sua eficiência alimentar. Entre as diferentes fontes de proteína e gordura disponíveis para serem utilizadas na alimentação de ruminantes no Brasil, o grão de soja se destaca pela grande disponibilidade e custo compatível com seu rico conteúdo de nutrientes. Atualmente segundo dados do AGRIANUAL (2011), o Brasil é o segundo produtor mundial de soja, com 65 milhões de toneladas produzidas na safra 2010/2011, perfazendo aproximadamente 24 milhões de hectares cultivados.

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

O grão de soja possui como características nutricionais 91,35% de matéria seca (MS), 38,65% de proteína bruta (PB), 19,27% de extrato etéreo (EE) e 88,73% de nutrientes digestíveis totais (NDT) (VALADARES FILHO, et al., 2010). Desta forma, tem sido utilizado na alimentação de ruminantes como fonte de proteína, fonte de gordura, e por também apresentar uma fibra de alta digestibilidade, e com efetividade mediana quando comparado com forragens, mas superior a de outros alimentos concentrados. O grão de soja também se destaca pelo elevado valor de ácidos graxos insaturados e pela grande aceitação pelos animais (PALMQUIST, 1978; PALMQUIST, 1991; RABELLO ET AL., 1996; PALMQUIST e MATTOS 2006).

O grão de soja integral apresenta vantagens em sua utilização, destacando-se como fonte de gordura, a vantagem de ter uma lenta liberação de lipídeos no rúmen, isso ocorre devido à maioria dos lipídeos estarem presentes no germe ou presos a matriz protéica e por isso, há necessidade de degradação da parede celular para que a hidrólise se inicie (COPPOCK e WILKS, 1991; PALMQUIST, 1991). Por apresentar essa característica de liberação lipídica lenta, os ácidos graxos insaturados não causam efeito negativo sobre as bactérias fibrinolíticas e ocorre maior formação de ácidos graxos intermediários provindos da biohidrogenação incompleta com efeitos nutracêuticos.

No entanto, a utilização de grão de soja integral cru na alimentação de ruminantes tem sido evitada devido à possível presença de substâncias tóxicas, estimulatórias ou inibitórias, incluindo fatores alergênicos e anticoagulantes. Porém, a maior parte destas substâncias não

apresenta problemas, sendo desativadas ou metabolizadas durante o processo de digestão, sendo a maior preocupação a presença de fatores que inibam a atividade da tripsina ou quimiotripsina. A presença destes fatores poderia apresentar um potencial de reduzir a digestibilidade da proteína da dieta e aumentar a excreção de nitrogênio (Mc DONALD et al., 2002).

Estudos com a utilização de grão de soja cru em rações de vacas leiteiras ainda não exploraram todo o potencial devido à preocupação com a qualidade da proteína, alta degradabilidade, presença de fatores antinutricionais e teor de extrato etéreo que poderiam comprometer o aproveitamento dos nutrientes. Além disso, não se tem o conhecimento do nível adequado de sua utilização nas rações de vacas leiteiras.

A realização do presente estudo visa obter mais informações a respeito da utilização do grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras no final de lactação, sobre o desempenho metabólico e produtivo dos animais e assim contribuir para exploração desse alimento pelos produtores de leite.



## **2 HIPÓTESE**

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

## **3 OBJETIVOS**

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

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Fontes de gordura para vacas leiteiras

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

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos com cadeias de acila normalmente composta por 22 átomos de carbono. As principais características dos ácidos graxos são: comprimento da cadeia, insaturação (a maioria dos ácidos graxos poli-insaturados possui ligações metilênicas), geometria de insaturação (*cis* ou *trans*), influência do formato da cadeia, família-*n* (“ $\square$ ” ou “ômega”) sendo este o fator chave para determinar sua essencialidade (PALMQUIST e MATTOS, 2006).

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

O tipo de ácido graxo dos alimentos é variável. Em cereais, e na maioria das sementes oleaginosas, há predominância de ácido linoléico (C18:2 n-6), enquanto em forragens o ácido graxo mais comum é o  $\alpha$ -linolênico (C18:3 n-3). Algumas exceções ocorrem, como óleo de palma (rico em C16:0), óleo de canola (C18:1 n-9) e o óleo de linhaça (C18:3 n-3). Portanto a matéria seca ingerida pela maioria dos animais domésticos contém cerca de 3 a 4 % de ácidos

graxos, a menos que sejam utilizados suplementos de sementes de oleaginosas ou outros suplementos lipídicos.

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

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

Considerando os inúmeros benefícios da suplementação de gordura para vacas em lactação, alguns fatores devem ser considerados essenciais para que se tenha sucesso com a suplementação de gordura. Entre estes fatores o período de adaptação se apresenta como o

principal. De acordo com Staples et al. (2001) e Grummer et al. (1990), a adaptação e a aceitabilidade das fontes de gordura durante o período de suplementação são fatores determinantes para respostas positivas no desempenho dos animais, pois quando se avalia diferentes fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras, respostas diferentes são esperadas e muito relacionadas ao tipo e nível de inclusão do suplemento na ração. De acordo com Grummer et al. (1990) a redução na aceitabilidade das fontes de gordura podem em parte explicar redução no consumo de matéria seca e baixa produção de leite. Segundo estes mesmos autores, as diferenças na aceitabilidade de diferentes fontes de gordura podem ser minimizadas misturando os suplementos aos outros ingredientes da dieta.

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

#### 4.2 Grão de Soja na Alimentação de Vacas Leiteiras

A preocupação sobre a utilização das fontes de gordura era determinar seu potencial de utilização. Rennó (2009) compilou artigos publicados no *Journal Dairy Science* (JDS) das décadas de 30 até a década de 90 analisando os resultados obtidos das diferentes fontes de gordura sobre o metabolismo animal.

Os estudos concentrados entre as décadas de 30 e 60 analisavam fontes naturais de gordura que tinham maior disponibilidade de utilização como o grão de soja e o caroço de algodão. Já os artigos publicados entre as décadas de 60 e 70 começaram estudos sobre fontes de gorduras inertes ao ambiente ruminal, como sais de cálcio de ácidos graxos. Sendo o começo de estudos com análises de formas de utilização das fontes disponíveis e níveis de

inclusão, onde surgiram estudos com grão de soja, gordura hidrogenada, gordura de origem animal, óleos e sais de cálcio.

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

Durante as décadas de 80 e 90, os estudos focavam em animais de alta produção e a inclusão de diferentes fontes de gordura processados. Uma das fontes utilizada foi o grão de soja com processamento térmico de tostagem e extrusão para análise de alteração na composição nutricional principalmente da proteína (RENNÓ, et.al. 2009). Os estudos de Mielke e Shingoethe (1981), Scott et al. (1991) e Faldet e Satter (1991) ilustram adequadamente este período de estudos com o grão de soja.

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

De forma semelhante, Scott et al. (1991) avaliaram a utilização de grão de soja cru processado na alimentação de vacas leiteiras com média de 115 dias em lactação e produção de leite corrigida para 4% de gordura de 30,0 Kg de leite dia. O grão de soja avaliado foi laminado, moído, moído associado a resíduo de cervejaria seco, tostado e extrusado. As dietas formuladas forneceram em média 4,0 Kg/dia de grão de soja por vaca, com exceção para a dieta composta por grão de soja associado a resíduo de cervejaria seco, que os animais tiveram acesso a menor quantidade de grão de soja. Não foi observada alteração na produção e composição do leite para as dietas que utilizaram grão de soja com menor nível de processamento, seja moído ou laminado, quando comparado com outras formas de processamento do grão de soja.

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

Grummer e Luck (1994) avaliaram vacas leiteiras de alta produção de leite com média 44,0 Kg e com 10 semanas de lactação. Os animais foram alimentados com silagem de alfafa (30% MS) e de milho (18%) como volumoso, sendo os 52% restantes de concentrado. O objetivo do estudo foi avaliar dietas contendo grão de soja cru moído (10% MS), grão de soja moído associado a farinha de carne e ossos (4% MS) e farinha de sangue (0,9% MS), e grão de soja tostado (9% MS). Foi observado maior produção de leite e seus componentes para as dietas com maior proporção de proteína na forma de PNDR, com desempenho inferior para a

dieta com grão de soja. Não foi observada nenhuma alteração no teor de gordura e proteína do leite, bem como no consumo de matéria seca e nutrientes, com exceção para o consumo de FDN.

Os resultados de Grummer e Luck (1994) representam a maior parte de estudos encontrados na literatura que avaliaram grão de soja na alimentação de vacas de alta produção, e em início de lactação. Em função da alta exigência de nutrientes, típica de vacas nesta circunstância, aliada ao menor consumo de vacas em início de lactação, são necessária maior atenção a qualidade e porcentagem dos nutrientes oferecidos. Assim, atenção deve ser dada para o perfil da proteína dietética, especialmente a relação PDR/PNDR, como, inclusive, preconiza o NRC (2001).

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

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

Os primeiros estudos conduzidos no Brasil que avaliaram a utilização de grão de soja na alimentação de vacas leiteiras foram os trabalhos de Deresz et al. (1996) e Mora et al. (1996). No estudo de Deresz et al. (1996), foram utilizadas vacas Holandesas com produção

de 28,0 Kg de leite/dia, em início de lactação, as rações continham aproximadamente 0, 12 e 24% da matéria seca total de grão de soja crua, triturada grosseiramente, sendo equivalente no concentrado a 0, 20% e 40% de grão de soja. O volumoso utilizado foi a silagem de milho, e a relação volumoso/concentrado foi de 40/60. Segundo os autores, não foram observados efeitos da utilização de até 40% do concentrado de grão de soja sobre a produção e composição do leite e o consumo de matéria seca e nutrientes.

Mora et al. (1996) avaliaram vacas de 26,0 Kg de leite/dia, após o pico de lactação, alimentadas com silagem de milho como volumoso basal. O concentrado continha 0, 15, 30 e 45% de grão de soja moído, e a relação volumoso/concentrado da dieta era de 50/50. Não foi observado efeito das dietas experimentais sobre o consumo de matéria seca e de nutrientes, com exceção do consumo de extrato etéreo, que foi maior à medida que aumentava o nível de inclusão de grão de soja nas dietas. O consumo de grão de soja foi de 1,34, 2,73 e 3,65 Kg/dia para as dietas com 15, 30 e 45% de grão de concentrado. Também não foi observado efeito sobre produção e composição do leite.

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

No estudo de Duarte et al. (2005) foi avaliado diferentes fontes de gordura na alimentação de vacas da raça Jersey após o pico de lactação, com média de produção de leite de 21,0 Kg/dia. As fontes utilizadas foram grão de soja moído (15% MS), sebo (2,74% MS) e sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma (3,2% MS), além da dieta controle. As dietas continham aproximadamente 6,3% de extrato etéreo, e a dieta controle cerca de 3,6%. Como



volumosos as dietas foram baseadas em silagem de milho (60%) e feno de alfafa (40%). Os autores não encontraram alteração no consumo de matéria seca e fibra, sendo observado somente maior consumo de extrato etéreo para as vacas alimentadas com fontes de gordura. As vacas submetidas a dieta com grão de soja consumiram cerca de 2,53 Kg/dia desta semente de oleaginosa. Também, não foi observado diferença entre as dietas controle, grão de soja e sais de cálcio em relação à produção e composição de leite. A dieta com sais de cálcio de ácidos graxos apresentou maior produção de leite do que as dietas controle e grão de soja.

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

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

Barletta (2010) avaliou a utilização de grão de soja cru e integral na dieta de vacas holandesas no terço inicial de lactação com produção de leite média de 30,0 kg/dia. Neste estudo, trabalhou com a inclusão de 8, 16 e 24% de grão de soja na dieta, observando que o nível de inclusão de até 16% de grão de soja integral na MS das dietas de vacas em início de lactação e com produção média de leite de 31,21 Kg/dia se mostrou o mais adequado, pois

não alterou o consumo de alimentos, nem a produção de leite, e resultou em algumas alterações positivas na composição do leite, como no aumento numérico da porcentagem de gordura e no perfil de ácidos graxos da gordura do leite.

Naves (2010) avaliou a inclusão de 20% de grão de soja nas dietas de vacas holandesas com produção de leite média de 30,0 kg/dia. O estudo teve como objetivo, avaliar diferentes formas de moagem do grão de soja na dieta que não apresentou benefícios sobre o grão de soja cru e integral, mostrando o potencial na utilização desta fonte de gordura.

#### 4.3 Consumo de Matéria Seca

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

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

Os resultados referentes ao CMS em vacas leiteiras suplementadas com fontes de gordura nas rações tem sido inconsistentes em função de vários fatores que podem estar

envolvidos na diminuição do consumo. De acordo com Allen (2000), os mecanismos pelo qual a suplementação de gordura na ração afeta o CMS ainda não está devidamente elucidado, mas há fortes evidências de que o efeito da gordura sobre a fermentação ruminal, motilidade intestinal, aceitabilidade da dieta com suplemento, liberação de hormônios intestinais, mecanismos regulatórios que controlam a ingestão de alimentos e a capacidade limitada dos ruminantes de oxidar os ácidos graxos sejam as principais razões da inibição de consumo.

No entanto, é preciso considerar que quando se avalia o CMS de vacas suplementadas com fontes de gordura, uma série de parâmetros estão envolvidos, sendo os principais a digestibilidade da fração fibrosa, o tipo de volumoso utilizado, a fonte e nível de gordura utilizado, e o estágio de lactação no qual se iniciou a suplementação de gordura (ONETTI e GRUMMER, 2004; NRC, 2001; STAPLES et al., 2001).

O NRC (2001) considera que mudanças no padrão de digestibilidade da fração fibrosa, alterações na fermentação ruminal e redução no teor de gordura no leite são fortes indicativos que a suplementação de gordura promoveu resposta fisiológica nos animais suplementados. Apesar de alguns estudos que utilizaram fontes adicionais de gordura para vacas leiteiras demonstrarem mudanças no padrão de fermentação ruminal, tais alterações nem sempre refletem em redução no consumo.

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

Vargas et al. (2002) avaliaram o consumo de matéria seca de vacas mestiças Holandês-Zebu e observaram que os animais que receberam o grão de soja integral nas rações

apresentaram CMS menor que os animais que receberam a dieta controle. Porém, no mesmo estudo, as vacas que receberam grão de soja integral apresentaram maior CMS do que as que receberam óleo na ração, apesar de tais animais estarem no início da lactação. No entanto, a produção e a composição do leite não foram afetadas pelas fontes de gordura.

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

Freitas Júnior (2008) comparou diferentes fontes de gordura, óleo de soja, sais de cálcio e 16% de inclusão de grão de soja nas dietas de vacas holandesas com média de produção de leite de 25,00 kg/dia, observando uma diminuição no consumo de vacas suplementadas com as fontes de gordura, em especial os sais de cálcio que apresentou menor consumo.

Barletta (2010) observou uma diminuição de consumo dos animais suplementados com grão de soja na proporção de inclusão de 24%, isso foi atribuído pela aceitabilidade dos animais e pelo alto teor de extrato etéreo da dieta (7,0%).

Naves (2010) não observou diferença no consumo entre o grão de soja cru e os processados, mas apresentou diferença entre a dieta controle e as fontes de gordura, onde o consumo das dietas de fonte de gordura tiveram menor consumo.

#### 4.4 Digestibilidade Aparente Total dos Nutrientes

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

A digestibilidade aparente encontrada em rações contendo 9,4% de grão de soja cru (na MS), consumidas por vacas da raça Holandesa durante 12 semanas experimentais, foi medida por Bernard (1990), cujos valores para coeficiente de digestibilidade da MS (CDMS) e coeficiente de digestibilidade da PB (CDPB) não diferiram para as dietas controle e grão de soja. Os autores também descrevem que houve aumento no coeficiente de digestibilidade EE do (CDEE) para as dietas contendo soja.

Mora et al. (1996) avaliaram vacas de 26,0 Kg de leite/dia, após o pico de lactação, alimentadas com silagem de milho como volumoso basal e o concentrado continha 0, 15, 30 e 45% de grão de soja moído, e a relação volumoso/concentrado da dieta era de 50/50. Os autores não observaram efeitos das dietas experimentais sobre a DAT da MS e da PB,

entretanto as dietas experimentais influenciaram positivamente a digestibilidade do extrato etéreo e negativamente a digestibilidade da matéria orgânica e da FDN.

Pereira et al. (1998) trabalharam com dois tratamentos, 0 e 30% (na MN), de grão de soja moído grosseiramente no concentrado, e o volumoso utilizado foi a silagem de milho. Os autores observaram que não houve diferença para a DAT dos nutrientes. Schauff et al. (1992) em experimento com grão de soja integral e sebo bovino (2,5 e 4%), observaram que as digestibilidade de MS, MO, celulose, conteúdo celular e PB diminuíram, quando fontes de gordura foram adicionadas à dieta. Entretanto, as digestibilidades de FDA, FDN e hemicelulose não foram afetadas.

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

Freitas Júnior (2008), Barletta (2010) e Naves (2010) apresentaram resultados semelhantes sobre a digestibilidade aparente total. Os estudos mostraram que o grão de soja não influencia na digestibilidade dos nutrientes, o que demonstra o potencial de utilização do grão de soja nas dietas dos animais.

#### 4.5 Fermentação Ruminal

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

população que pode demora dias ou semanas, dependendo de quanto drástica é a mudança na dieta (Owens e Goetsch, 1993).

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

Entretanto, quando lipídeos são adicionados nas rações de ruminantes podem afetar a fermentação ruminal causando redução da digestibilidade dos nutrientes da dieta. A digestão ruminal de carboidratos estruturais pode ser reduzida em 50% quando menos de 10% de gordura é adicionada nas rações. Esta redução na digestão é acompanhada pela redução na produção de metano, hidrogênio, e ácidos graxos voláteis, incluindo baixa razão acetato: propionato (JENKINS, 1993).

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

Onetti e Grummer (2004) enfatizaram que a utilização de silagem de milho como volumoso pode causar mudanças na população bacteriana no rúmen, favorecendo organismos responsáveis pela formação de *trans*-10, *cis*-12 CLA, e isômeros *trans* de C18:1, ou seja,

favorecendo o processo de biohidrogenação que causa a formação de CLA específico, reduzindo a síntese de gordura do leite (BAUMMAN e GRINARI, 2001).

Com relação ao uso de feno durante a suplementação de gordura, os efeitos desse volumoso não têm apresentado alterações no padrão de fermentação ruminal, sendo diferente em relação à silagem de milho. Ueda et al. (2003) avaliaram a suplementação de gordura em vacas leiteiras no início de lactação e utilizaram feno de gramíneas como principal volumoso nas dietas, e observaram redução na proporção molar de acetato em relação à de propionato.

Dietas com alta proporção de silagem de milho como volumoso diminui no rúmen a proporção molar de acetato e reduz a de propionato quando comparadas a dietas ricas em silagem de alfafa, ou dietas com proporções iguais das duas forragens (ONETTI et al., 2001). Outros fatores que podem influenciar a suplementação de gordura na dieta, é fase na qual se iniciou a suplementação, que pode influenciar mudanças do padrão de fermentação ruminal.

Certas fontes de gordura, especialmente na forma protegida da degradação ruminal, como os sais de cálcio de ácidos graxos de cadeia longa, e fontes de gordura que possuem proteção natural, como sementes de oleaginosas inteiras ou parcialmente quebradas, possuem efeito inerte sobre a população microbiana, não apresentando toxicidade da gordura sobre os processos de degradação ruminal de nutrientes, especialmente da fibra (ALLEN, 2000; PALMQUIST e MATTOS, 2006).

A concentração de ácidos graxos livres insaturados provavelmente determina maiores efeitos negativos na capacidade fermentativa do rúmen do que outras frações lipídicas (ácidos graxos livres saturados e triglicérides). Portanto, a suplementação com óleos vegetais, reconhecida fonte de ácidos graxos insaturados, seria um grande causador de distúrbios de fermentação, independente do volumoso utilizado. Entretanto, quando esta fonte é fornecida na forma de sementes de oleaginosas (grão de soja), estes distúrbios podem ser



significativamente reduzidos, onde o óleo é liberado mais lentamente, em taxas onde não há um comprometimento na digestibilidade de nutrientes (COPPOCK e WIKS, 1991).

Chouinard et al. (1999) avaliando a adição de sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de canola, linhaça e soja na dieta de vacas e encontraram digestibilidade aparente total da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e FDN maiores para as dietas suplementadas com sais de cálcio do que para a dieta controle.

O uso de gorduras em rações para ruminantes apresenta efeitos desejáveis, como inibição da produção de metano, redução da concentração de  $\text{NH}_3$  ruminal, aumento na eficiência da síntese microbiana e aumento de ácido linoléico conjugado (CLA) no leite, que tem sido considerado um importante agente anticarcinogênico (LIN e CHANG, 1995). Por outro lado pode apresentar efeitos indesejados como citados anteriormente, como a redução na digestibilidade da matéria seca (MS) e redução na relação acetato:propionato com conseqüente diminuição da gordura do leite.

Barletta (2010) observou uma queda na produção de  $\text{N-NH}_3$  sendo atribuído com a menor inclusão de uréia e as fontes de gordura não serem as fontes de energia das bactérias ruminais. A produção de ácidos graxos voláteis foi menor a medida que aumentava a inclusão de grão de soja nas dietas. Naves (2010) observou resultado semelhante a Barletta (2010) sobre os ácidos graxos voláteis, mas não ocorreu diminuição na concentração de  $\text{N-NH}_3$ , sendo que a inclusão de grão de soja nas dietas foi constante apenas alterando a forma de apresentação.

#### 4.6 Síntese de Proteína Microbiana

A síntese de proteína microbiana no rúmen é de vital importância para a saúde e produtividade de animais ruminantes (PEHRSON, 2002). Resultados promissores têm sido obtidos pela estimativa de síntese microbiana a partir da concentração de derivados de purina, em especial a alantoína na urina e no leite, que são produtos da degradação de ácidos nucléicos em quase sua totalidade dos microrganismos do rúmen (PEHRSON, 2002).

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

Os níveis de uréia no sangue e principalmente no leite vêm sendo apontados, como bons indicadores relacionados ao balanço entre os níveis de energia e proteína na dieta. A suplementação lipídica pode influenciar o balanço de energia e proteína, não por modificação no nível de energia, mas pela mudança na forma como esta energia será aproveitada pelos microrganismos no rúmen (COSTA, 2008).

Barletta (2010) e Naves (2010) apresentaram resultados semelhantes na síntese de proteína microbiana. Ambos não observaram diferenças entre as dietas, mostrando que a inclusão do grão de soja não prejudica a produção de síntese de proteína microbiana.

Porém, são poucos resultados apresentados na literatura que avaliaram a utilização de fontes de gordura e a síntese de proteína microbiana ruminal.

#### 4.7 Produção e Composição do Leite

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

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

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

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

A adição de lipídeos na dieta, por meio de óleos, e especialmente de sementes de oleaginosas como o grão de soja, pode melhorar o nível energético para atender a demanda de

alta produção de leite. Esta adição além de permitir maior incorporação de ácidos graxos de cadeia longa na gordura do leite, melhora a eficiência da energia metabolizável utilizada na produção de leite, uma vez que ácidos graxos da dieta podem ser incorporados à gordura do leite, com redução da energia na síntese de ácidos graxos (HUTJENS e SCHULTZ, 1971; MOHAMED et al., 1988).

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

Com relação a variações na composição do leite, o teor de gordura e proteína do leite são as frações que estão sujeitas as maiores alterações durante a suplementação com gordura nas dietas. A biohidrogenação tem um papel de proteção para os microrganismos do efeito tóxico exercido pelos ácidos graxos insaturados (OLIVEIRA, 2001). Segundo Allen (2000), o processo de biohidrogenação é mais intenso, sendo maior de 90%, quando se fornece óleos nas rações. Esse processo pode ser realizado por rota alternativa, produzindo ácidos graxos específicos *cis*-9, *trans*-11-CLA e o *trans*-10, *cis*-12-CLA (DHIMAN et al., 2000; BAUMAN e GRIINARI, 2001). Estudos recentes demonstraram que o isômero *trans*-10, *cis*-12 CLA produzido durante o processo de biohidrogenação têm efeito inibidor sobre a síntese da gordura do leite na glândula mamária (BAUMAN e GRIINARI, 2001).

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

A redução de proteína do leite com a utilização de gordura na dieta é por vezes citada na literatura (ROMO et al., 2000; DELBECCHI et al., 2001; WU et al., 1994; WU et al., 1993) e algumas hipóteses são discutidas procurando explicar qual a razão deste decréscimo.

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

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

O aumento da eficiência energética para produção de leite representa mais uma teoria que tenta explicar a possível redução da proteína do leite em vacas suplementadas com gordura. Durante a suplementação de gordura a síntese *de novo* de ácidos graxos do leite é diminuída devido à incorporação da adição de ácidos graxos da dieta no leite. Essa diminuição pode reduzir as exigências de acetato e aumentar o aproveitamento de glicose para

síntese de lactose, a qual é associada com o aumento da produção de leite ou eficiência de produção de leite, resultando em diminuição do fluxo sanguíneo mamário.

A explicação mais difundida envolve o aumento no fornecimento de energia e o suprimento de aminoácido, onde este suprimento não consegue atender a demanda para a síntese protéica na mesma extensão em que aumenta o consumo de energia pelos animais (CANT et al., 1993).

Onetti e Grummer (2004) utilizaram fontes de gordura e observaram baixa concentração de N-NH<sub>3</sub> ruminal como consequência de dietas com alta quantidade de silagem de milho e presença de ácidos graxos insaturados, que pode reduzir o crescimento microbiano e conseqüentemente o aproveitamento de aminoácidos disponíveis para a glândula mamária e para síntese de proteína.

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

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

Freitas Júnior (2008) e Barletta (2010) observaram que a inclusão de grão de soja na alimentação dos animais acarretou em uma diminuição na produção de leite. O que pode ser

justificado pelo menor consumo que os animais tiveram. Barletta (2010) observou também que a proteína e lactose do leite sofreram uma diminuição que é esperado em dietas com altos teores de extrato etéreo. Naves (2010) não observou alteração na produção e composição do leite.

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

#### 4.8 Perfil de Ácidos Graxos do leite

Os avanços da pesquisa, especialmente nas técnicas de análise de gordura, permitiram separar a gordura animal em seus componentes menores, os ácidos graxos, e avaliar o efeito individual destes em modelos experimentais. Destes estudos descobriu-se que vários ácidos graxos possuem propriedades benéficas à saúde, como o ácido butírico e os ácidos graxos insaturados: ácidos oléico, eicosapentaenóico (EPA), decosahexaenóico (DHA) e os ácidos linoléicos conjugados (CLAs) (LEITE e LANNA, 2009).

Além dos efeitos na saúde, os ácidos graxos da classe ômega 3 e 6 e CLA apresentam a capacidade de modificar o metabolismo de alguns tecidos, o que pode ser usado estrategicamente em algumas situações com a finalidade de melhorar o desempenho animal. Por exemplo, a depressão de síntese de gordura no leite, provocada pelo CLA *trans*-10, *cis*-

12, que pode ser usado para diminuir o gasto energético de vacas leiteiras em início de lactação, amenizando o balanço energético negativo (MEDEIROS et al., 2000). Outro exemplo são os ácidos graxos da classe ômega 3 que podem influenciar positivamente a reprodução e o sistema imunológico de vacas.

A gordura no leite é composta por 97-98% de triglicerídeos, sendo o restante formado por fosfolipídeos e esteróis. Em torno de 500 ácidos graxos são encontrados esterificados na molécula de triglicerídeo (DEMEYER e DOREAU, 1999). A gordura no leite é sintetizada a partir dos ácidos graxos obtidos de diversas fontes: da gordura da dieta, da mobilização de triglicerídeos do tecido adiposo ou através da síntese própria, chamada de síntese *de novo*. A síntese *de novo* é responsável pela produção de ácidos graxos de cadeia curta (C4- 10). No caso dos ácidos graxos de cadeia média (C12-16) apenas 50% são sintetizados por esta via, o restante vem de ácidos graxos pré-formados. Os ácidos graxos de cadeia longa (>C18) e 50% dos ácidos graxos de cadeia média chegam a glândula mamária através da circulação sanguínea (DEMEYER e DOREAU, 1999).

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

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



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

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

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

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

alterações da dieta, produzindo uma gama enorme de ácidos graxos. A síntese *de novo* também sofre influencia da dieta e de fatores metabólicos no rúmen.

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

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

Jenkins e Bridges (2007) elaboraram uma revisão de literatura de 25 artigos com animais canulados, sendo bovinos de corte e vacas leiteiras, sobre suplementação de diferentes fontes de gordura e produção de ácidos graxos. Os autores concluíram que fontes de gordura desprotegidas têm uma perda de ácidos graxos insaturados no rúmen de 86% de ácido linolênico e oléico e 82% de ácido linoléico. Para os animais que receberam dietas sem adição de gordura, o fluxo intestinal normal foi de 45, 38 e 5g/dia para os ácidos oléico, linoléico e linolênico, respectivamente. O aumento do fluxo intestinal dos ácidos graxos insaturados pode ser necessário para atender a demanda dos tecidos por ácidos graxos essenciais ou alterar a composição do perfil de ácidos graxos do leite.

A utilização de sementes oleaginosas, no caso o grão de soja, na alimentação de vacas de leite apresentam uma proteção natural a biohidrogenação ruminal, sendo assim, a quantidade de ácidos graxos de cadeia longa insaturados, de preferência os C:18, que chegam ao duodeno é maior. Os animais tendo um maior aporte desses ácidos graxos que possuem

benefícios para a saúde animal, acabam sendo excretados no leite sendo benéficos para a saúde humana.

Freitas Júnior et al., (2010), observou aumentos na proporção de ácidos graxos insaturados nas rações, promoveria redução na proporção de ácidos graxos insaturados/saturados C18, mas também promoveria aumentos na concentração de *trans*-C18:1 como resultados de biohidrogenação. Essa relação ocorreu neste estudo através da utilização de óleo de soja. Entretanto de todas as rações experimentais a ração contendo sais de cálcio de ácidos graxos apresentou maior concentração de *trans*-C18:1 podendo se concluir dessa forma, que houve biohidrogenação deste suplemento e que a determinação deste ácido graxo foi essencial para este estudo de ácidos graxos do leite de vacas suplementadas com fontes de gordura.

Barletta (2010) e Naves (2010) observaram uma melhora nas características do perfil de ácidos graxos do leite. Ambos apresentaram um aumento na quantidade de ácidos graxos insaturados e diminuição na quantidade de ácidos graxos saturados, o que mostra o potencial que o grão de soja tem em não influenciar a porcentagem de gordura excretada mas mudança as características do perfil de ácidos graxos.

#### 4.9 Parâmetros Sanguíneos

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

metabolismo de Lipídeos e podem influenciar os parâmetros sanguíneos em animais recebendo gordura nas rações.

No âmbito da avaliação dos parâmetros sanguíneos de vacas suplementadas com gordura, pode-se afirmar que durante o período de suplementação são esperados aumentos dos níveis de colesterol total, triglicerídeos, e colesterol nas frações HDL, LDL e VLDL, especialmente em função do aumento do nível de gordura circulante (BAUMAN e LOCK, 2006). Ingraham e Kappel (1988) enfatizaram que avaliar os níveis plasmáticos de colesterol seria parâmetro a ser utilizado para avaliar a capacidade da vaca em produzir mais leite, uma vez que tal concentração reflete a capacidade de mobilização de gordura corporal e ingestão de gordura da dieta para lactogênese.

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

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

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

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

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

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

Barletta (2010) e Naves (2010) observaram um aumento no colesterol total e colesterol HDL nos parâmetros sanguíneos dos animais. Este aumento da concentração do colesterol total e colesterol HDL no lipidograma do soro pode ser justificado devido ao maior consumo

de ácidos graxos nas rações, que proporcionou aumento das respectivas frações relativas ao metabolismo de Lipídeos transportadas no sangue.

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Local, Instalações e Animais

O experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, no período de 30 de junho a 21 de setembro de 2010. Foram utilizadas 16 vacas da raça Holandesa, agrupadas em quatro quadrados latinos 4x4, contemporâneos e balanceados de acordo com o período de lactação. O experimento foi constituído por quatro períodos, com duração de 21 dias cada um, sendo os 14 primeiros dias de adaptação às rações e os demais para avaliar as variáveis mensuradas. Os animais foram alimentados com quatro rações durante o período experimental, formuladas para serem isonitrogenadas, de forma a atenderem as exigências nutricionais de vacas em lactação com aproximadamente 580 Kg de peso corporal, média de 228 dias de lactação, produzindo diariamente 23,0 Kg de leite com 3,5% de gordura, conforme recomendações do NRC (2001).

### 5.2 Rações Experimentais

Os animais foram distribuídos aleatoriamente para receber as seguintes rações experimentais: 1) Controle (C), composto por ração sem a inclusão de grão de soja; 2) Grão de soja integral 9% (G9), 3) Grão de soja integral 18% (G18), e 4) Grão de soja integral 27% (G27), com a utilização respectivamente, de 9,0, 18,0 e 27,0% de grão de soja cru e integral na ração, na matéria seca. Durante o período experimental foi utilizada a silagem de milho como volumoso, e as respectivas rações e água foram fornecidos “*ad libitum*”.

Durante o período experimental, os animais recebiam a dieta em proporção 60:40 (volumoso:concentrado) duas vezes ao dia. No período da manhã e a tarde, as dietas eram fornecidas, aproximadamente às 8:00 e 13:30 horas, respectivamente. As proporções de silagem de milho e concentrado foram fornecidas na forma de ração total e completa.

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

Tabela 1 – Composição bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais

Composição química	SM <sup>6</sup>	FS <sup>7</sup>	Milho <sup>8</sup>	GS <sup>9</sup>
Matéria Seca (MS) <sup>1</sup>	29,26	90,71	85,42	91,31
Matéria Orgânica (MO) <sup>2</sup>	93,60	93,45	98,29	94,43
Matéria Mineral (MM) <sup>2</sup>	6,40	6,55	1,71	5,57
Proteína Bruta (PB) <sup>2</sup>	9,49	52,19	10,69	40,68
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Neutro (NIDN) <sup>3</sup>	4,97	2,63	3,40	2,79
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido (NIDA) <sup>3</sup>	3,00	0,48	2,09	0,99
Extrato Etéreo (EE) <sup>2</sup>	1,24	2,14	2,70	20,66
Carboidratos Totais (CT) <sup>2</sup>	82,87	39,12	85,50	32,79
Carboidratos Não Fibrosos (CNF) <sup>2</sup>	27,98	21,90	74,92	11,29
Fibra em Detergente Neutro (FDN) <sup>2</sup>	54,98	17,22	9,98	21,80
FDN corrigida para Cinzas e Proteína (FDN <sub>CP</sub> ) <sup>2</sup>	50,01	14,59	6,58	10,52
Fibra em Detergente Ácido (FDA) <sup>2</sup>	37,06	11,71	4,61	15,11
FDA indigestível (FDAi) <sup>2</sup>	18,65	0,66	0,54	0,43
Lignina <sup>2</sup>	3,42	2,94	2,88	2,90
Nutrientes Digestíveis Totais (NDT) <sup>4</sup>	62,94	76,69	87,06	99,67
Energia Líquida de Lactação (EL <sub>L</sub> ) <sup>4</sup> (Mcal/Kg)	1,62	2,21	1,96	2,92
Energia Bruta (EB) <sup>5</sup> (cal/g/MS)	3739,37	4080,75	3493,12	4947,87

<sup>1</sup>Valor expresso em porcentagem da matéria natural; <sup>2</sup>Valores expressos em porcentagem da matéria seca; <sup>3</sup>Valores expressos em porcentagem MS; <sup>4</sup>Valores estimados pelas equações do NRC (2001); <sup>5</sup>Obtido com auxílio de bomba calorimétrica; <sup>6</sup>SM: silagem de milho; <sup>7</sup>FS: farelo de soja; <sup>8</sup>Milho moído; <sup>9</sup>GS: Grão de soja.

Tabela 2 – Composição dos ácidos graxos dos ingredientes

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

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



Tabela 3 – Composição químico bromatológica dos concentrados experimentais

Ingredientes (%MS)	Rações experimentais <sup>1</sup>			
	C	G9	G18	G27
Milho moído	56,09	45,56	35,06	25,84
Farelo de soja	34,98	23,78	12,58	-
Grão de soja	-	22,58	45,11	67,68
Uréia	2,30	1,45	0,60	0,00
Sulfato de amônia	0,25	0,25	0,25	0,13
Bicarbonato de sódio	1,45	1,45	1,45	1,45
Óxido de magnésio	0,23	0,23	0,23	0,23
Calcáreo	0,48	0,48	0,48	0,48
Mistura Mineral <sup>2</sup>	3,98	3,98	3,98	3,95
Sal comum	0,25	0,25	0,25	0,25
<i>Composição química</i>				
Matéria Seca (MS) <sup>2</sup>	88,58	89,18	89,77	93,35
Matéria Orgânica (MO) <sup>3</sup>	87,81	88,32	88,80	89,30
Matéria Mineral (MM) <sup>3</sup>	3,24	3,57	3,92	4,20
Proteína Bruta (PB) <sup>3</sup>	30,72	30,54	30,34	30,29
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Neutro (NIDN) <sup>4</sup>	2,12	2,78	2,77	2,75
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido (NIDA) <sup>4</sup>	1,33	1,28	1,23	1,21
Extrato Etéreo (EE) <sup>3</sup>	2,25	6,39	10,51	14,67
Carboidratos Totais (CT) <sup>3</sup>	63,79	59,50	55,23	50,84
Carboidratos Não Fibrosos (CNF) <sup>3</sup>	52,18	45,95	39,75	33,52
Fibra em Detergente Neutro (FDN) <sup>3</sup>	11,61	13,55	15,48	17,32
Fibra em Detergente Ácido (FDA) <sup>3</sup>	6,67	8,29	9,89	11,41
Lignina <sup>3</sup>	2,63	2,65	2,66	2,70
Nutrientes Digestíveis Totais (NDT) <sup>5</sup>	75,65	80,39	85,12	89,94
Energia Líquida de Lactação (EL <sub>L</sub> ) <sup>5</sup> (Mcal/Kg)	1,87	2,07	2,28	2,48
Energia Bruta (Mcal/kg MS)	3,38	3,67	3,97	4,25

<sup>1</sup>Composição por quilograma de produto: cálcio-190g, fósforo-73g, enxofre-30g, magnésio-44g, cobre-340mg, zinco-1350mg, manganês-940mg, cobalto-3mg, iodo-16mg, selênio-10mg, ferro-1064mg, vitamina A-100000, vitamina D-40000, vitamina E-600,0; <sup>2</sup>Valor expresso em porcentagem da matéria natural; <sup>3</sup>Valores expressos em porcentagem da matéria seca; <sup>4</sup>Valores expressos em porcentagem do nitrogênio total; <sup>5</sup>Valores estimados pelas equações do NRC (2001); <sup>6</sup>Controle (C); G9, G18 e G27 se referem a inclusão de, respectivamente, 9, 18 e 27% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca.

Tabela 4 – Composição bromatológica das rações experimentais

Ingredientes (%)	Rações experimentais <sup>6</sup>			
	C	G9	G18	G27
Silagem de milho	60,03	60,05	60,10	60,03
Milho moído	22,42	18,20	13,99	10,33
Farelo de soja	13,98	9,50	5,02	-
Grão de soja	-	9,02	18,00	27,05
Uréia	0,92	0,58	0,24	-
Sulfato de amônia	0,10	0,10	0,10	0,05
Bicarbonato de sódio	0,58	0,58	0,58	0,58
Óxido de magnésio	0,09	0,09	0,09	0,09
Calcáreo	0,19	0,19	0,19	0,19
Mistura Mineral <sup>1</sup>	1,59	1,59	1,59	1,59
Sal comum	0,10	0,10	0,10	0,24
<i>Composição química</i>				
Matéria Seca (MS) <sup>2</sup>	52,96	53,18	53,40	53,81
Matéria Orgânica (MO) <sup>3</sup>	91,27	91,46	91,68	91,87
Matéria Mineral (MM) <sup>3</sup>	5,01	5,27	8,35	5,51
Proteína Bruta (PB) <sup>3</sup>	17,96	17,87	17,79	17,79
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Neutro (NIDN) <sup>4</sup>	4,10	4,08	4,08	4,08
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido (NIDA) <sup>4</sup>	2,32	2,30	2,28	2,27
Extrato Etéreo (EE) <sup>3</sup>	1,63	3,26	4,92	6,59
Carboidratos Totais (CT) <sup>3</sup>	75,40	73,60	68,94	70,11
Carboidratos Não Fibrosos (CNF) <sup>3</sup>	36,64	33,52	30,39	27,57
Fibra em Detergente Neutro (FDN) <sup>3</sup>	37,63	38,41	39,21	39,92
Fibra em Detergente Ácido (FDA) <sup>3</sup>	24,90	25,54	30,27	26,79
Lignina <sup>3</sup>	3,10	3,10	3,11	3,12
Nutrientes Digestíveis Totais (NDT) <sup>5</sup>	68,01	70,33	72,62	77,39
Energia Líquida de Lactação (EL <sub>L</sub> ) <sup>5</sup> (Mcal/Kg)	1,72	1,80	1,88	1,96
Energia Bruta (Mcal/kg MS)	3,59	3,71	3,82	3,94

<sup>1</sup>Composição por quilograma de produto: cálcio-190g, fósforo-73g, enxofre-30g, magnésio-44g, cobre-340mg, zinco-1350mg, manganês-940mg, cobalto-3mg, iodo-16mg, selênio-10mg, ferro-1064mg, vitamina A-100000, vitamina D-40000, vitamina E-600,0; <sup>2</sup>Valor expresso em porcentagem da matéria natural; <sup>3</sup>Valores expressos em porcentagem da matéria seca; <sup>4</sup>Valores expressos em porcentagem do nitrogênio total; <sup>5</sup>Valores estimados pelas equações do NRC (2001); <sup>6</sup>Controle (C); G9, G18 e G27 se referem a inclusão de, respectivamente, 9, 18 e 27% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca.

### 5.3 Análise de Alimentos

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

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

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

Os teores de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente neutro livre de cinza e proteína (FDNcp), e fibra detergente ácido (FDA) foram obtidos conforme método descrito por Van Soest e Mason (1991), utilizando-se  $\alpha$ -amilase sem adição de sulfito de sódio na determinação do FDN, em Sistema Ankon®.

#### 5.4 Digestibilidade Aparente Total

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

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

As amostras de silagem, sobras e fezes foram pré-secas em estufa com ventilação forçada (65°C/72 horas), e, em conjunto com as demais amostras de ingredientes, foram processadas em moinho de facas com peneiras de 2 mm.

Para avaliação dos teores dos componentes indigestíveis, as amostras processadas foram acondicionadas em sacos de tecido não-tecido (TNT-100g/m<sup>2</sup>), com dimensões de 4 x 5 cm. As alíquotas foram acondicionadas em todos os sacos, segundo a relação de 20 mg de matéria seca por centímetro quadrado de superfície (NOCEK, 1988).

Antes da incubação das amostras duas vacas da raça Holandesa foram adaptadas durante 7 dias com ração a base de farelo de soja e milho moído, e recebendo silagem de milho como volumoso. Posteriormente ao período de adaptação dos animais, as amostras foram incubadas no rúmen por período de 240 horas, segundo adaptação de técnica descrita por CASALI et al, 2008.

Após a retirada do rúmen os sacos foram lavados com água corrente até o total clareamento desta, e imediatamente conduzidos à estufa de ventilação forçada (65°/72 horas).

Após este período, os sacos foram submetidos à secagem em estufa não ventilada (105°C/45 minutos), sendo retirados, acondicionados em dessecador (20 sacos/dessecador), e

pesados, obtendo-se a matéria seca indigestível. Posteriormente, os sacos foram submetidos ao tratamento com detergente ácido (MERTENS, 2002) por uma hora, em equipamento analisador de fibra Ankon®. Após este período foram lavados com água quente e acetona, sendo secos e pesados conforme procedimento anterior. Ao final deste tratamento, obteve-se a FDAi.

### 5.5 Excreção de Grão de Soja nas Fezes

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

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

As concentrações de consumo de matéria seca (kg/dia) foi mensurada pela fórmula:  $CMS = (\text{consumo de MS} \times \% \text{ grão de soja na dieta})/100$ . O consumo de matéria natural (kg/dia) foi obtida pela fórmula:  $CMN = (\text{consumo de matéria seca de grão de soja})/MS \text{ grão de soja}$ .

A concentração de excreção de matéria seca foi obtida pela equação:  $EMS = (\text{consumo de MS do grão de soja} - \text{excreção de MS do grão de soja}) / \text{Excreção total de fezes} * 100$ , a excreção de matéria natural foi obtida pela equação:  $(\text{peso da amostra GS coletado} * 100) / \text{peso amostra coletada de fezes MN}$ . A excreção de MS (kg/dia) foi obtida pela equação:  $EMS = (\text{excreção total de fezes} * \% \text{ grão de soja nas fezes}) / 100$ . A matéria natural corrigida é obtida pela equação:  $MNC = (\text{excreção de MS (kg/dia)}) / \text{MS do grão de soja}$ .

## 5.6 Balanço de Energia

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

O consumo de energia líquida (CEL), os valores de energia líquida de produção ( $EL_P$ ), energia líquida de ganho ( $EL_g$ ), e mudança de peso de corpo vazio (MPCV) foram calculados de acordo com as equações do NRC (2001), a seguir:  $CEL \text{ (Mcal/dia)} = 0,703 \times EM \text{ (consumo)} - 0,19 + \{[(0,097 \times EM \text{ (consumo)} + 0,19)/97] \times [EE - 3]\}$ ;  $EM \text{ (consumo)} = 1,01 \times (ED \text{ (consumo)} - 0,45) + 0,0046 \times (EE - 3)$  onde: EM = energia metabolizável; EE = extrato etéreo; ED = energia digestível.

Os valores de energia metabolizável (EM) foram obtidos pela seguinte fórmula:  $EM \text{ (Mcal/Kg)} = [1,01 * \{(\%CNF/100) * 4,2 + (\%FDN/100) * 4,2 + (\%PB/100) * 5,6 + (\%AG/100) * 9,4 - 03\} - 0,45] + 0,0046 * (EE - 3,0)$ .

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

Os valores de energia líquida de produção (EL<sub>p</sub>) foram calculados segundo a fórmula: EL<sub>p</sub> (Mcal/dia) = produção de leite (Kg) × (0,0929 × G% + 0,0563 × pv% + 0,0395 × lactose%) onde: G%=teor de gordura no leite; pv=teor de proteína verdadeira do leite.

A mudança de peso de corpo vazio (MPCV) foi calculada a partir do peso vivo (PV) onde: PCV = 0,817\* PV. A energia líquida de ganho foi calculada através da fórmula: EL<sub>g</sub> = 1,42 EM – 0,174\*EM + 0,0122\*EM\*1,65.

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

## 5.7 Balanço de Nitrogênio

Para o cálculo de balanço de nitrogênio foi realizada a determinação da concentração de creatinina na urina de acordo com metodologia descrita por Valadares et al. (1999) e Rennó (2003). As amostras *spot* de 50 mL de urina foram obtidas de todas as vacas no 16º dia de cada período experimental, quatro horas após a alimentação matinal, durante micção estimulada por massagem na vulva. As alíquotas de 50 mL de urina (amostra *spot*) foram filtradas e alíquotas de 10 mL foram diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico e foram armazenadas a -15 °C para posteriores análises de ácido úrico e alantoína. Uma

amostra de urina pura foi armazenada para determinação dos compostos nitrogenados totais, de uréia e creatinina.

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

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

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

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



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

## 5.8 Fermentação Ruminal

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

No laboratório as amostras foram centrifugadas a 2.000 x g por 15 minutos, 1 mL do sobrenadante foi colocado em tubo de ensaio e adicionando-se 0,2 mL de ácido fórmico P.A., arrolhado e identificado e armazenado em congelador a -20 °C para determinação de ácidos graxos de cadeia curta. Da mesma amostra 2 mL do sobrenadante foi pipetado e armazenado em tubos de ensaio contendo 1 mL de ácido sulfúrico a 1 N, para posterior determinação da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>).

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

ionização de chamas de 250 °C e da coluna de separação de 195 °C por 3 minutos, aumentando 10 °C/minuto até 200 °C.

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

O nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) foi determinado pelo método de ácido salicílico. Foram adicionados aos tubos contendo amostras de líquido ruminal e ácido sulfúrico a 1 N, 1 mL de tungstato de sódio a 10%, e posteriormente as amostras foram centrifugadas a 1.200 x g durante 15 minutos. Em seguida foram pipetados 25 µL do sobrenadante a um tubo limpo e neste adicionados 5 mL do reagente fenol e 5 mL de hipoclorito.

Os tubos foram agitados para homogeneização das amostras e colocados em banho-maria a 37 °C durante 15 minutos adquirindo coloração azul. Após resfriamento as amostras foram analisadas em espectrofotômetro quanto a sua absorvância e os resultados obtidos foram utilizados em equação de regressão para calcular a concentração em mg/dL, onde: Concentração de N-NH<sub>3</sub> (mg/dL) = Absorvância - (a)/b; b= R<sup>2</sup> da equação elaborada a partir do padrão.

## 5.9 Síntese de proteína microbiana

As análises para determinação da síntese de proteína microbiana foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do VNP-FMVZ-USP. As amostras utilizadas para análise de alantoína no leite foram coletadas de dois dias alternados, sendo provenientes

das duas ordenhas diárias. Uma alíquota de 10 mL de leite foi diluída com 5 mL de ácido tricloroacético a 25%, sendo filtrada em papel-filtro e congelada para posterior determinação dos níveis de uréia e alantoína no leite desproteinizado. Alíquotas de 50 mL de urina (amostra *spot*) foram obtidas de todas as vacas no 16º dia do período experimental, aproximadamente 4 horas após a alimentação, durante micção estimulada por massagem na vulva. A urina foi filtrada e alíquotas de 10 mL foram diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico. Uma amostra de urina pura foi armazenada para determinação dos compostos nitrogenados totais, de uréia e creatinina.

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

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

A excreção total de derivados de purinas foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina e da quantidade de alantoína excretada no leite, expressas em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (DP, mmol/dia), por meio da equação

$P_{abs} = (DP - 0,236 * PV^{0,75}) / 0,84$ , em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina e  $0,236 * PV^{0,75}$ , a excreção endógena de derivados de purina (ORELLANA BOERO et al., 2001).

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

## 5.10 Produção e Composição do Leite

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

As amostras utilizadas para análise da composição do leite foram obtidas no 16º de cada período experimental, sendo cada amostra proveniente das duas ordenhas diárias. Foram determinados também os teores de gordura, proteína e lactose. Para a determinação da gordura no leite foram utilizadas amostras a fresco, segundo a metodologia descrita por Gerber (COELHO e ROCHA, 1977) no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal do VNP-FMVZ-USP. Também foram realizadas as análises no leite de nitrogênio total (NT) e lactose utilizando o equipamento LACTOSCAN no Laboratório de Bioquímica e

Fisiologia Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP. Para determinação da uréia e nitrogênio uréico no leite, as amostras de leite foram desproteinizadas da mesma forma que as amostras utilizadas na análise da alantoína. As análises da concentração de uréia no leite desproteinizado foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP, por meio de kits comerciais (Laborlab® e CELM®). A concentração de nitrogênio uréico no leite foi determinada indiretamente por meio da seguinte fórmula: Nitrogênio uréico = uréia (mg/dL)/2,14.

#### 5.11 Perfil de ácidos graxos do leite

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

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

Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (GC Shimatzu 2010, com injeção automática), usando coluna capilar SP-2560 (100 m × 0,25 mm de diâmetro com 0,02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). A temperatura inicial foi de 70 °C por 4

minutos (13° C/minuto) até chegar a 175 °C, mantendo por 27 minutos. Depois, um novo aumento de 4 °C/minuto, foi iniciado até 215 °C, mantendo durante 31 minutos. Hidrogênio (H<sub>2</sub>) foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 40 cm/s. Durante o processo de identificação foram utilizados quatro padrões: standard C4-C24 de ácidos graxos (Supelco ® TM 37), ácido vacênico C18:1 *trans*-11 (V038-1G, Sigma®), C18 CLA:2 *trans*-10, *cis*-12 (UC-61M 100mg), CLA e C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (UC-60M 100mg), (NU-CHEK-PREP EUA ®) para identificação dos ácidos graxos que são formados durante a biohidrogenação de ácidos graxos insaturados.

#### 5.12 Parâmetros Sanguíneos

As coletas de sangue foram realizadas no 19° dia de cada período experimental por punção da veia e/ou artéria coccígea, anteriormente ao fornecimento das rações no período da manhã. As amostras foram coletadas em tubos vacuolizados (*vacutainer*) de 10 mL para dosagem dos parâmetros sanguíneos glicose, colesterol total, colesterol-HDL, proteínas totais, albumina, uréia e nitrogênio uréico, as enzimas aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamil transferase (GTA), no soro, e tubos contendo fluoreto de sódio para dosagem de glicose no plasma.

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

As análises das concentrações dos parâmetros sanguíneos foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP, por meio de kits comerciais (Laborlab® e CELM®) que utilizam

método enzimático colorimétrico de ponto final, sendo a leitura realizada em analisador automático de bioquímica sanguínea (Sistema de Bioquímica Automático SBA-200 CELM®).

### 5.13 Avaliação do Escore de Condição Corporal e Peso Corporal

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

### 5.14 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial. Utilizou-se o modelo misto com efeito fixo de período (3 GL), quadrado latino (3GL) e dieta (3 GL) e como efeito aleatório o efeito do animal dentro do quadrado latino (13 GL), interação da dieta e quadrado (9 GL) e o erro usando o procedimento PROC MIXED do SAS, versão 9.0 (SAS, 2009). As médias foram ajustadas pelo LSMEANS e analisadas pelo teste de Tukey ajustado do PROC MIXED adotando-se nível de significância de 5%.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Consumo e digestibilidade aparente total

Os resultados referentes ao consumo diário de matéria seca e nutrientes, de acordo com as dietas experimentais, podem ser observados na (Tabela 5). Não houve efeito ( $P>0,005$ ) sobre a digestibilidade de matéria seca e da matéria orgânica, consumo e digestibilidade da proteína bruta, consumo e digestibilidade da fibra detergente neutro, no consumo expresso em porcentagem de peso vivo de fibra detergente neutro, matéria seca e nos nutrientes digestíveis totais sendo semelhantes entre as dietas experimentais (Tabela 5).

Observou-se efeito linear decrescente ( $P<0,05$ ) sobre o consumo de matéria seca e da matéria orgânica, no consumo de carboidratos totais e na digestibilidade da proteína bruta e dos carboidratos não fibrosos (Tabela 5) sendo a dieta G27 com menores valores de consumo e digestibilidade. Essa redução do consumo da matéria seca pode ser justificada pela aceitabilidade da dieta G27 e pelos altos teores de extrato etéreo nas mesmas, pois o consumo de grão de soja dos animais submetidos à dieta G27 chegou a atingir 6,59 % de extrato etéreo na dieta para esta ração experimental.

O consumo de carboidratos totais diminuiu pelo menor consumo de matéria seca dos animais submetidos a esta dieta e também pelas quantidades de CNF e CT nas dietas, ou seja, à medida que aumentavam os níveis de inclusão de grão de soja, foi diminuída a quantidade de fubá de milho (fonte expressiva de CNF e CT), conseqüentemente nas dietas experimentais com maiores níveis de grão de soja eram compostas por menores teores de CNF e CT.

Foi observado efeito linear crescente ( $P<0,05$ ) para o consumo de extrato etéreo e de nutrientes digestíveis totais, o maior consumo deste nutriente para a dieta G27 (Tabela 5). É esperado um aumento no consumo e digestibilidade do extrato etéreo devido a inclusão do grão de soja. A quantidade de NDT da dieta foi aumentando com a inclusão de grão de soja.



Tabela 5 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) do consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes em função das rações experimentais.

Parâmetros	Dietas experimentais <sup>1</sup>				Média	EPM	<i>P</i> <sup>2</sup>	
	C	G9	G18	G27			L	Q
	<i>Consumo kg/dia</i>							
Materia Seca	18,97 <sup>a</sup>	18,58 <sup>a</sup>	19,06 <sup>a</sup>	17,97 <sup>b</sup>	18,62	0,25	0,048	0,203
Matéria Orgânica	18,02 <sup>a</sup>	17,63 <sup>a</sup>	18,06 <sup>a</sup>	17,01 <sup>b</sup>	17,68	0,24	0,301	0,209
Proteína Bruta	3,48	3,44	3,53	3,35	3,45	0,04	0,170	0,190
Extrato Etéreo	0,35 <sup>d</sup>	0,64 <sup>c</sup>	1,00 <sup>b</sup>	1,27 <sup>a</sup>	0,81	0,04	<0,001	0,655
Fibra em Detergente Neutro	7,26	6,91	7,22	6,93	7,98	0,10	0,173	0,765
Carboidratos Não Fibrosos	8,29 <sup>a</sup>	7,65 <sup>b</sup>	7,33 <sup>b</sup>	6,42 <sup>c</sup>	7,42	0,13	<0,001	0,219
Carboidratos Totais	14,21 <sup>a</sup>	13,56 <sup>a</sup>	13,54 <sup>a</sup>	12,40 <sup>b</sup>	13,42	0,19	<0,001	0,217
Nutrientes Digestíveis Totais	13,46 <sup>b</sup>	13,74 <sup>b</sup>	14,56 <sup>a</sup>	14,17 <sup>a</sup>	13,98	0,19	0,002	0,107
	<i>Mcal/dia</i>							
Energia Líquida de Lactação	39,91	39,34	40,50	38,17	39,48	0,72	0,113	0,123
	<i>Digestibilidade Aparente total %</i>							
Materia Seca	61,80	62,68	62,01	62,01	62,12	0,72	0,992	0,725
Matéria Orgânica	66,05	66,15	66,33	65,99	66,13	0,66	0,998	0,851
Proteína Bruta	60,63	58,23	58,22	60,03	59,27	1,00	0,810	0,198
Extrato Etéreo	65,03 <sup>c</sup>	72,21 <sup>b</sup>	83,01 <sup>ab</sup>	83,36 <sup>a</sup>	75,90	1,67	<0,001	0,129
Fibra em Detergente Neutro	52,15	49,66	54,17	53,95	52,48	0,84	0,092	0,382
Carboidrato Não Fibroso	61,61 <sup>a</sup>	55,48 <sup>ab</sup>	56,79 <sup>b</sup>	53,77 <sup>b</sup>	56,91	1,24	0,016	0,394
Carboidratos Totais	63,95	62,87	64,21	62,04	63,26	0,91	0,286	0,549
NDT <sub>OBS</sub> <sup>3</sup>	62,62	60,09	62,69	61,31	61,67	0,85	0,861	0,737
	<i>Consumo em % PV<sup>4</sup></i>							
Fibra em Detergente Neutro	1,15	1,12	1,17	1,13	1,14	0,02	0,831	0,830
Materia Seca	3,03	3,01	3,10	2,94	3,02	0,05	0,390	0,124

<sup>1</sup>Controle (C); G9, G18 e G27 se referem a inclusão de, respectivamente, 9, 18 e 27% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca, <sup>2</sup>Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed; <sup>3</sup>NDT<sub>obs</sub>: NDT observado; <sup>4</sup>PV: peso vivo.

Quando são avaliadas diferentes fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras, diferentes respostas são esperadas estando relacionadas ao tipo e nível de inclusão do suplemento de gordura na ração. Para rações contendo de 5 a 6% de extrato etéreo na matéria seca, segundo o NRC (2001), a adição de óleo de sementes e ácidos graxos parcialmente hidrogenados reduz o consumo, entretanto quando se utiliza semente de oleaginosas como o grão de soja, esta redução no consumo pode não ser observada.

Barletta (2010) avaliou a inclusão de 8, 16 e 24% de grão de soja nas rações experimentais de vacas no início de lactação com produção de leite média de 30 kg/dia observando uma diminuição do consumo de matéria seca com devido à aceitabilidade da dieta

G24 pelos altos teores de extrato etéreo. Verificou também aumento no consumo de extrato etéreo e diminuição do consumo dos carboidratos totais e não fibrosos devido à composição da dieta, semelhante ao encontrado no estudo.

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

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

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

Teoricamente, o uso de grão de soja proporcionaria menor efeito da gordura sobre a digestibilidade de nutrientes por proporcionar lenta liberação de Lipídeos no rúmen, não superando a capacidade de hidrogenação dos microrganismos ruminais e impedindo uma possível perda de digestibilidade de fibra pelo efeito negativo que gorduras insaturados prontamente disponíveis no rúmen podem causar nas bactérias fibrolíticas (COPPOCK e WILKS, 1991; PALMQUIST, 1991), resultado obtido no presente estudo.

O presente estudo não mostrou alterações na digestibilidade o que se observa na literatura, pode ser devido as características dos animais que possuem uma menor taxa de passagem e as exigências nutricionais estarem sendo supridas.

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

## 6.2 Grão de Soja nas Fezes

Não houve efeito ( $P>0,05$ ) da composição das fezes para matéria orgânica, fibra em detergente neutro e carboidratos não fibrosos entre as dietas experimentais (Tabela 6). Houve efeito linear crescente ( $P<0,05$ ) para matéria seca (Tabela 6), sendo que os animais submetidos à ração G27 apresentaram maiores valores, e as dietas C, G9 e G18, não diferiram entre si. Estes resultados podem ser explicados pela maior quantidade de grão de soja presente nas fezes dos animais submetidos a esta dieta.

Também foi observado efeito linear crescente ( $P<0,05$ ) para proteína bruta (Tabela 6) onde os animais da ração G18 e G27 apresentaram maiores valores diferentes da ração C e a ração G9 foi semelhante a todas. Este efeito pode ser explicado pelo aumento da inclusão de grãos de soja nas dietas, pois a mediada que se aumentava os níveis de inclusão aumentava a excreção de grão nas fezes, levando assim a um aumento da proteína bruta da mesma. Entretanto, não houve alteração no coeficiente de digestibilidade da proteína bruta, demonstrando que para animais com esta produção e fase de lactação a inclusão de até 27%

de grão de soja integral na matéria seca da dieta não influencia a digestibilidade da proteína bruta da dieta.

Observou-se também efeito linear crescente ( $P < 0,05$ ) para o teor de extrato etéreo presente nas fezes (Tabela 6). À medida que foram aumentados os níveis de inclusão de grão de soja nas dietas, aumentou-se os teores de extrato etéreo, e conseqüentemente o teor de extrato etéreo presente nas fezes. Entretanto, foi observadas diferenças na digestibilidade do extrato etéreo para as dietas experimentais, o que mostra que as exigências energéticas dessas vacas eram menores que a fornecida havendo uma perda de energia.

Também foi observado efeito linear decrescente ( $P < 0,05$ ) para carboidrato total (Tabela 6), sendo que os animais submetidos à dieta controle apresentaram os maiores valores, mas não diferiram dos animais submetidos à dieta G9. Os animais submetidos às dietas G18 e G27 apresentaram menores valores, mas não diferiram entre si. Estes podem ser explicados pela quantidade de CT e CNF presente nas dietas, ou seja, à medida que aumentavam os níveis de inclusão de grão de soja, foi diminuída a quantidade de fubá de milho (fonte expressiva de CNF) e de CT, conseqüentemente nas dietas experimentais com maiores níveis de grão de soja eram compostas por menores teores de CNF e CT.

Tabela 6 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) da composição das fezes em função das rações experimentais.

Parâmetros	Rações experimentais <sup>1</sup>				Média	EPM	$P^2$	
	C	G9	G18	G27			L	Q
Matéria Seca	13,41 <sup>b</sup>	13,61 <sup>b</sup>	13,93 <sup>b</sup>	14,71 <sup>a</sup>	13,91	0,20	<0,001	0,240
Matéria Orgânica	84,37	86,30	84,53	85,61	85,20	0,29	0,386	0,401
Proteína Bruta	17,10 <sup>b</sup>	18,47 <sup>ab</sup>	19,47 <sup>a</sup>	19,07 <sup>a</sup>	18,52	0,24	<0,001	0,024
Extrato Etéreo	1,94	2,34	2,07	2,72	2,26	0,11	0,016	0,507
Fibra Detergente Neutro	42,90	43,09	42,15	42,05	42,54	0,48	0,223	0,827
Carboidrato não Fibroso	39,55	40,88	40,32	40,84	40,39	0,47	0,166	0,445
Carboidrato Total	65,34 <sup>a</sup>	65,49 <sup>a</sup>	62,98 <sup>b</sup>	63,81 <sup>b</sup>	64,40	0,32	0,002	0,498

<sup>1</sup>Controle (C); G9, G18 e G27 se referem a inclusão de, respectivamente, 9, 18 e 27% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca. <sup>2</sup>Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed

Não foi observado efeito ( $P>0,05$ ) para a composição química-bromatológica do grão de soja presente nas fezes para MS, MO, PB, EE, FDN, CNF e CT (Tabela 7). Entretanto, vale observar e destacar que a composição bromatológica do grão de soja das fezes não apresentou diferença do grão *in natura* mas a quantidade de grão excretada foi de 0,26 kgMS/dia sendo o consumo de 4,68 kgMS/dia, sendo assim o grão de soja tem potencial de utilização pelo aproveitamento dos animais.

Tabela 7 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) do consumo e excreção de grão de soja e composição químico-bromatológica do grão de soja nas fezes em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais <sup>1</sup>				Média	EPM	$P^2$	
	C	G9	G18	G27			L	Q
<i>Consumo</i>								
Matéria Seca (kg/dia)	-	1,66 <sup>c</sup>	3,42 <sup>b</sup>	4,68 <sup>a</sup>	6,64	0,22	<0,001	0,037
Matéria Natural (kg/dia)	-	1,82 <sup>c</sup>	3,75 <sup>b</sup>	5,14 <sup>a</sup>	8,17	0,57	<0,001	0,063
<i>Excreção</i>								
Matéria Natural (%)	-	2,08 <sup>b</sup>	2,90 <sup>ab</sup>	3,66 <sup>a</sup>	2,88	0,21	<0,001	0,181
Matéria Seca (%)	-	7,05 <sup>b</sup>	8,18 <sup>a</sup>	10,84 <sup>a</sup>	18,41	0,80	0,004	0,181
Matéria Natural (kg/dia)	-	1,36 <sup>b</sup>	1,93 <sup>a</sup>	2,18 <sup>a</sup>	1,82	0,15	<0,001	0,101
Matéria Seca (kg/dia)	-	0,18 <sup>b</sup>	0,28 <sup>a</sup>	0,33 <sup>a</sup>	0,26	0,02	<0,001	0,123
Matéria Natural cor (kg/dia)	-	0,19 <sup>b</sup>	0,30 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,23	0,13	<0,001	0,116
<i>Composição químico-bromatológica</i>								
Matéria Seca	-	31,27	31,13	32,04	31,48	0,49	0,337	0,547
Matéria Orgânica	-	96,14	96,16	96,19	96,16	0,04	0,657	0,812
Proteína Bruta	-	54,82	54,73	54,86	54,80	0,11	0,528	0,796
Extrato Etéreo	-	24,25	24,62	24,68	24,51	0,14	0,412	0,612
Fibra Detergente Neutro	-	39,65	37,77	40,32	39,24	1,05	0,650	0,946
Carboidrato não Fibroso	-	32,23	33,76	31,18	32,39	1,05	0,510	0,748
Carboidrato Total	-	17,06	16,80	16,64	16,83	0,17	0,504	0,763

<sup>1</sup> Controle (C); G9, G18 e G27 se referem a inclusão de, respectivamente, 9, 18 e 27% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca, <sup>2</sup> Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed.

Em relação ao consumo de grão de soja integral na matéria seca e matéria natural, foi observado efeito linear crescente ( $P<0,05$ ) (Tabela 7), que é explicado pela utilização de níveis crescentes de grão nas dietas experimentais, ou seja, à medida que se aumentava a inclusão de grão de soja nas dietas aumentava-se também o consumo do mesmo.

Também houve efeito linear crescente ( $P < 0,05$ ) para a excreção nas fezes de grão de soja em porcentagem e em kg por dia, de matéria natural e matéria seca (Tabela 7), sendo que os animais submetidos à dieta G9 apresentaram menores valores que os submetidos às dietas G18 e G27, e estas dietas não diferiram entre si. Estes resultados podem ser explicados pelos teores de inclusão do grão de soja na dieta destes animais e assim aumentar a taxa de excreção do grão. Entretanto, as taxas tiveram um valor baixo comparado com a quantidade suplementada, mas isso é devido aos animais estarem no final de lactação e a taxa de passagem ser menor que dos animais no início de lactação. É necessário uma avaliação dos parâmetros, como coeficiente de digestibilidade, consumo de matéria seca e desempenho produtivo para se ter uma real avaliação do potencial de utilização do grão de soja integral para vacas de leite.

Avaliando o conjunto de dados relacionados à digestão do presente estudo pode-se confirmar o potencial de utilização do grão de soja em uma porcentagem de 18% na alimentação de vacas leiteiras nesta fase de lactação, e com este desempenho produtivo.

Barletta (2010) utilizou a mesma metodologia de análise dos grão de soja das fezes e obteve resultados semelhantes, apenas os valores das taxas de excreção de MN e MS foram maiores mas isso pode ser associado aos animais utilizados estarem no início de lactação com uma maior taxa de passagem.

### 6.3 Fermentação Ruminal

Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) das rações experimentais sobre os valores de pH ruminal no tempo de coleta avaliado (Tabela 8), e os valores encontrados foram próximos às médias consideradas normais, de 5,9 a 7,0, para otimização da taxa de digestão ruminal e da degradação da parede celular da fibra sugeridas por Furlan et al. (2006). A concentração de N-

NH<sub>3</sub> foi maior (P<0,05) para os animais que receberam a dieta controle em relação as dietas com inclusão do grão de soja (Tabela 8). Estes resultados são esperados devido à maior porcentagem de uréia presente na matéria seca da dieta controle, o que pode levar a maior concentração de N-NH<sub>3</sub> três horas após a alimentação. Além disso, o grão de soja integral é uma fonte protéica mais resistente a degradação ruminal que a uréia, proporcionando, nas dietas onde houve a inclusão do grão, níveis menores de N-NH<sub>3</sub>. Também, vale ressaltar um possível efeito depressor dos lipídeos insaturados sobre a população de bactérias gram-positivas fermentadoras obrigatórias de aminoácidos para suprir suas necessidades energéticas e protéicas (CHEN e RUSSELL., 1989).

Tabela 8 – Parâmetros de fermentação ruminal de acordo com os teores de grão de soja integral utilizados nas rações experimentais.

Parâmetros	Rações experimentais <sup>1</sup>				Média	EPM	P <sup>2</sup>	
	C	G9	G18	G27			L	Q
pH	6,76	6,74	6,69	6,76	6,73	0,031	0,857	0,331
N-NH <sub>3</sub>	20,4 <sup>a</sup>	18,61 <sup>a</sup>	15,96 <sup>b</sup>	13,49 <sup>b</sup>	17,11	0,99	0,010	0,846
	<i>mmol/L</i>							
Acético	58,48 <sup>a</sup>	56,70 <sup>a</sup>	54,71 <sup>ab</sup>	48,39 <sup>b</sup>	54,57	1,36	0,001	0,285
Propiônico	16,55	16,88	15,85	14,62	15,97	0,47	0,037	0,273
Butírico	10,35 <sup>a</sup>	9,91 <sup>a</sup>	9,72 <sup>ab</sup>	8,35 <sup>b</sup>	9,58	0,28	0,008	0,240
	<i>(%)</i>							
Acético	68,67	67,78	68,27	68,18	68,22	0,21	0,491	0,193
Propiônico	19,19	20,06	19,63	20,25	19,78	0,18	0,044	0,673
Butírico	12,13	12,17	12,10	11,56	11,99	0,14	0,042	0,131
Rel C2/C3 <sup>3</sup>	3,60	3,41	3,50	3,40	3,48	0,04	0,085	0,497

<sup>1</sup> Controle (C), (G9), inclusão de 9% de grão de soja cru inteiro na dieta total, (G18), inclusão de 18% de grão de soja cru inteiro na dieta total, (G27), inclusão de 27% de grão de soja cru inteiro na dieta total. <sup>2</sup> Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q). <sup>3</sup> Relação Acetato: Propionato. Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferenciam em 5% no teste de TUKEY ajustado pelo PROC MIXED.

Houve efeito linear decrescente (P<0,05) para as concentrações mmol/L de ácido acético, propiônico e butírico e na concentração molar do ácido butírico (Tabela 8). Estes resultados podem ser explicados pelo efeito depressor dos lipídeos sobre as bactérias ruminais. Além de serem animais no final de lactação com uma taxa de passagem menor, os lipídeos não são fontes de energia para o crescimento microbiano. As concentrações de ácido

butírico foram menores o que pode ser relacionado ao menor consumo de matéria seca dos animais alimentados com a dieta G27.

A relação acético:propiónico não foi afetada pelas proporções molares de acético e propiónico estarem semelhantes entre as rações experimentais.

Os resultados de fermentação ruminal encontrados (Tabela 8) sugerem que a dieta G27 (que apresentava porcentagem de 6.59% de extrato etéreo, ou seja, alta quantidade de ácidos graxos insaturados) pode ter inibido bactérias ruminais e a fermentação da fibra. Assim alguns parâmetros ruminais foram influenciados, como a porcentagem de ácido propiónico e butírico, além da concentração molar de ácido acético, propiónico e butírico. Esses resultados indicam que a inclusão de até 18% de grão de soja integral nas rações não influenciaram a fermentação ruminal das vacas utilizadas neste estudo.

Barletta (2010) observou resultados semelhantes de N-NH<sub>3</sub> e de concentração molar ao trabalhar com a inclusão de 8, 16 e 24% de grão de soja cru e integral em vacas de leite no início de lactação. Avaliou um decréscimo da concentrações molares de ácido propiónico e butírico mas não no ácido acético fazendo ter uma diferença na relação acético:propiónico.

Naves (2010) avaliou vacas de leite no início de lactação suplementando com 20% de grão de soja cru e integral, grão de soja moído 2 mm e grão de soja moído 4 mm não observou alteração no N-NH<sub>3</sub> e nas concentrações molares e porcentagem dos ácidos acéticos e propiónico apenas tendo um decréscimo no ácido butírico.

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

Shauff et al., (1992), testando soja integral e/ou sebo bovino em dietas para vacas em lactação, observaram que a proporção molar de acetato e a relação acetato:propionato



tenderam a decrescer nas dietas contendo lipídeo. Resultados similares foram encontrados por Stern et al. (1985), quando soja integral foi fornecida para vacas em lactação, e por Storry et al. (1973); Palmquist e Conrad (1978).

Dessa forma, analisando em conjunto os dados de digestibilidade aparente total dos nutrientes e fermentação ruminal obtidos neste estudo, verifica-se que a concentração de 18% não afeta negativamente o metabolismo ruminal. É necessário sempre avaliar a categoria animal, tipos de fontes de Lipídeos e o fornecimento por influenciarem a resposta do animal sobre a fonte de gordura.

#### 6.4 Síntese de Proteína Microbiana

Não houve diferença ( $P>0,05$ ) nas excreções diárias em Mmol/L e Mmol/dia de alantoína na urina e no leite, e ácido úrico na urina e para a produção de urina em L/dia, para as rações experimentais (Tabela 9). De forma semelhante, não houve diferença nas concentrações ( $P>0,05$ ) das purinas totais, derivados de purinas e purinas absorvíveis em Mmol/dia, e também não foi observada diferença ( $P>0,05$ ) para a produção de nitrogênio microbiano e proteína bruta microbiana, em g/dia, entre as rações experimentais (Tabela 9). Da mesma maneira não foi observada diferença ( $P>0,05$ ) na eficiência da síntese de proteína microbiana entre as rações experimentais.

Estes resultados indicam que a utilização de níveis crescentes de grão de soja integral nas dietas, até o nível de 27% na MS não influenciou a síntese de proteína microbiana, entretanto, podemos verificar houve redução numérica da síntese de proteína microbiana.

A suplementação de sementes de oleaginosas com elevado teor de extrato etéreo reduz a quantidade de carboidratos rapidamente fermentáveis, podendo diminuir a quantidade de

substrato disponível para a síntese de proteína microbiana. Entretanto, alguns estudos encontrados na literatura não demonstram tais resultados.

Tabela 9 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) da síntese de proteína microbiana em função das rações experimentais.

Parâmetros <sup>3</sup>	Rações experimentais <sup>1</sup>				Média	EPM	P <sup>2</sup>	
	C	G9	G18	G27			L	Q
<i>Mmol/L</i>								
Al-leite	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,01	0,826	0,568
Al-urina	9,35	8,33	8,68	8,31	8,66	0,47	0,439	0,682
Ác-úrico	1,37	1,16	1,24	1,25	1,25	0,06	0,480	0,383
<i>Mmol/dia</i>								
Al-leite	1,77	1,86	1,84	1,63	1,77	0,12	0,617	0,448
Al-urina	233,87	208,29	217,17	207,90	216,80	11,81	0,439	0,682
Ác-úrico	34,51	29,06	31,10	30,76	31,35	1,55	0,482	0,382
Pt	270,20	239,22	250,11	240,31	249,96	12,67	0,419	0,626
Alan:Pt	85,39	87,24	86,09	85,89	86,15	0,57	0,933	0,267
Pabs	295,78	259,43	272,50	260,84	272,13	15,15	0,429	0,633
<i>g/dia</i>								
N mic	186,16	163,28	171,51	164,17	171,28	9,53	0,429	0,633
Pb mic	1163,51	1020,49	1071,92	1026,07	1070,49	9,61	0,429	0,633
<i>g Pbmic/Kg NDT</i>								
Eficiência	96,95	85,04	89,32	85,50	89,20	4,96	0,429	0,633
<i>L/dia</i>								
Urina	16,10	17,65	16,43	17,53	16,92	0,62	0,554	0,847

<sup>1</sup>Controle (C); G9, G18 e G27 se referem a inclusão de, respectivamente, 9, 18 e 27% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca, <sup>2</sup>Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferenciam em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed, <sup>3</sup>Alantoina no leite (Al-leite), alantoina na urina (Al-urina), ácido úrico (Ác-úrico), purinas totais (Pt), derivados de purinas (Dp), purinas absorvíveis (Pabs), nitrogênio microbiano (N mic), proteína microbiana (Pb mic).

Freitas Júnior et al. (2010) avaliaram a excreção dos derivados de purina, nitrogênio microbiano total e proteína microbiana em dietas com a inclusão de 16% de grão de soja cru na matéria seca das rações e não encontraram diferença para as demais rações avaliadas, os valores observados pelos autores são semelhantes aos encontrados no presente estudo.

Barletta (2010) não observou alteração na síntese de proteína microbiana utilizando até 24% de inclusão de grão de soja nas rações, encontrando como nitrogênio microbiano 269,90 g/dia. Resultado semelhante encontrado por Naves (2010) que utilizou 20% de grão de soja nas rações, encontrando como nitrogênio microbiano 225,98 g/dia.

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

A proteína microbiana é a melhor fonte de aminoácidos disponível para síntese e produção de leite, os resultados indicam que o grão de soja integral é uma excelente fonte de nitrogênio, pois demonstrou não alterar a produção microbiana.

#### 6.5 Produção e Composição do Leite

Não foi observado efeito ( $P > 0,05$ ) sobre a produção de leite corrigida, a gordura em kg/dia, porcentagem de proteína e lactose, uréia, nitrogênio uréico do leite, escore de condição corporal e eficiência (Tabela 10) Esse resultado indica que possivelmente o aporte de nutrientes para o animal e especialmente para a glândula mamária não foi limitado pelos níveis de grão de soja nas rações experimentais.

Houve efeito linear decrescente ( $P < 0,05$ ) sobre a produção de leite, proteína, lactose e peso corporal (Tabela 10), onde, os animais que receberam a ração G27 apresentaram menor produção de leite quando comparada as demais rações utilizadas. A adição de gordura na dieta normalmente diminui a porcentagem de proteína no leite em 0,1 a 0,3 unidades percentuais, como pôde ser visto no experimento. As alterações na fermentação ruminal, ou pelo menor substrato para os microorganismos ruminais provenientes das dietas com maiores teores de extrato etéreo, com baixa na quantidade de proteína microbiana absorvida (Tabela 10) e que chegaria à glândula mamária, influenciando negativamente a produção de proteína no leite.

Tabela 10 – Médias e erro padrão da média (EPM) do desempenho produtivo em função das rações experimentais.

Parâmetros	Rações Experimentais <sup>1</sup>				Médias	EPM	P <sup>2</sup>	
	C	G9	G18	G27			L	Q
	<i>kg/dia</i>							
Produção de Leite	24,23	23,99	23,92	22,60	23,69	0,85	0,003	0,297
Produção Corrigida	23,43	25,09	25,51	24,74	24,69	0,85	0,417	0,235
Gordura	0,77	0,89	0,91	0,90	0,87	0,03	0,098	0,255
Lactose	1,09 <sup>a</sup>	1,07 <sup>ab</sup>	1,07 <sup>ab</sup>	1,01 <sup>b</sup>	1,06	0,03	0,006	0,281
Proteína	0,72	0,71	0,71	0,67	0,70	0,02	0,039	0,512
	<i>Porcentagem</i>							
Gordura	3,56 <sup>c</sup>	3,96 <sup>b</sup>	4,08 <sup>b</sup>	4,21 <sup>a</sup>	3,95	0,11	0,007	0,478
Lactose	4,55	4,56	4,56	4,55	4,55	0,03	0,952	0,773
Proteína	3,02	3,02	3,03	3,05	3,03	0,02	0,510	0,650
	<i>mg/dL</i>							
Uréia no leite	18,27	18,93	19,87	18,37	18,86	0,56	0,790	0,302
NUL	8,52	8,84	9,26	8,58	8,80	0,26	0,785	0,308
Peso Corporal (Kg)	627,93	620,31	617,75	615,06	620,14	7,43	0,035	0,672
ECC <sup>3</sup>	2,63	2,56	2,59	2,56	2,58	0,02	0,478	0,969
Eficiência <sup>4</sup>	1,07	1,09	1,07	1,06	1,07	0,03	0,204	0,817

<sup>1</sup> Controle (C), (9%), inclusão de 9% de grão de soja cru inteiro na dieta total, (18%), inclusão de 18% de grão de soja cru inteiro na dieta total, (27%), inclusão de 27% de grão de soja cru inteiro na dieta total. <sup>2</sup> Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q). <sup>3</sup> Nitrogênio Urêico do Leite (NUL). <sup>4</sup> Escore de Condição Corporal (ECC). Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferenciam em 5% no teste de TUKEY ajustado pelo PROC MIXED.

A porcentagem de gordura do leite apresentou efeito linear crescente ( $P < 0,05$ ) onde G27 apresentou o maior valor entre as rações experimentais, G9 e G18 tiveram resultados semelhantes e o C foi diferente das outras rações. Por apresentarem uma menor produção de leite a medida que aumenta a inclusão de grão de soja nas rações, o teor de gordura aumenta por perder o efeito de diluição no leite.

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

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

Barletta (2010) observou diminuição na produção de leite, proteína, e lactose sendo as dietas com 24% de inclusão de grão de soja com menor resultado, semelhante aos encontrados no presente estudo.

Naves (2010) utilizando 20% de inclusão de grão de soja não observou efeito sobre a produção de leite, proteína e lactose, mostrando o potencial da utilização de grão de soja na suplementação de vacas leiteiras.

Como no presente estudo foram observadas alterações na fermentação ruminal (Tabela 8) em função dos níveis de inclusão de grão de soja nas dietas, as produções de ácidos graxos de cadeia curta foram alteradas entre as rações experimentais. Desta forma, houve alteração no fornecimento de glicose para síntese de leite, e houve alteração da produção de proteína no leite quando as vacas foram alimentadas com as rações contendo 27% de inclusão de grão de soja na matéria seca.

## 6.6 Perfil de ácidos graxos no leite

Em relações as concentrações dos isômeros C18:1 *trans*-11 e CLA *trans*-10, *cis*-12 não foi observado efeito ( $P>0,05$ ) para as rações experimentais (Tabela 11), estes resultados podem ser justificados pelo possível poder de proteção contra a biohidrogenação ruminal do grão de soja integral, não superando assim a capacidade de hidrogenação dos microorganismos ruminais, impedindo assim a biohidrogenação parcial e formação de isômeros que possam ter efeito negativo na porcentagem de gordura no leite, como o CLA *trans*-10, *cis*-12.

A concentração do isômero CLA *cis*-9, *trans*-11 apresentou efeito linear decrescente ( $P < 0,05$ ) sendo a ração C com maior valor e diferente das rações com grão de soja G9, G18 e G27 que obtiveram resultados semelhantes. Isso se deve pela menor taxa de passagem que os animais do terço final de lactação possuem, fazendo a via de biohidrogenação desse isômero ocorrer.

De forma geral, não foi observado efeito para as concentrações totais de ácidos graxos  $< C16$ , apesar dos valores números mostrarem uma diminuição para as rações com grão de soja. Os ácidos butírico (C 4:0), capróico (C 6:0), caprílico (C 8:0), cáprico (C 10:0), láurico (C 12:0), mirístico (C 14:0) Pentadecilíco (C 15:0) apresentaram resultados lineares decrescente ( $P < 0,05$ ), com o aumento da inclusão de grão de soja nas rações. Os ácidos graxos de cadeia curta são sintetizados principalmente nas células epiteliais da glândula mamária, a partir do acetato e do  $\beta$ -hidroxibutirato, que são originados no rúmen, os valores encontrados no presente estudo sugerem que a inibição da síntese de ácidos graxos de cadeia curta na gordura do leite pelos aumentos dos níveis de inclusão de grão de soja e conseqüente de extrato etéreo das dietas pode ser explicada pela diminuição dos ácidos graxos de cadeia curta no rúmen (Tabela 8).

Foi observado efeito linear decrescente ( $P > 0,05$ ) entre as rações experimentais para os ácidos graxos C16, mostrando que a quantidade de ácidos graxos de cadeia longa do leite foi maior que os ácidos graxos de cadeia curta. Sendo assim, os ácidos graxos insaturados de cadeia longa, provenientes do grão de soja, foram absorvidos no duodeno e indo para a glândula mamária pela corrente sanguínea.

A concentração de ácido esteárico (C 18:0) ( $P < 0,05$ ) aumentou para a ração contendo grão de soja, confirmando maior participação de AGs pré-formados de origem dietética para a composição de gordura do leite. Os lipídeos adicionados à ração tendem a aumentar o teor de

ácido esteárico, resultados semelhantes foram encontrados por Schauff et al. (1992) e Pinto (1997).

Não foi observado efeito ( $P>0,05$ ) para as concentrações de C18:0 insaturado e para a relação insaturado:saturado C18:0 para as rações experimentais (Tabela 11).

Tabela 11 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) para o perfil de ácidos graxos (g/100g de AG) da gordura do leite de acordo com as rações experimentais,

Ácido graxo	Tamanho da cadeia	Rações experimentais <sup>1</sup>				Média	EPM	$P^2$	
		C	G9	G18	G27			L	Q
<i>AG g/100g do total AG</i>									
Butírico	C 4:0	1,54	1,49	1,53	1,51	1,51	0,02	0,881	0,799
Capróico	C 6:0	1,65 <sup>a</sup>	1,54 <sup>ab</sup>	1,48 <sup>ab</sup>	1,44 <sup>b</sup>	1,52	0,02	<0,001	0,411
Caprílico	C 8:0	1,15 <sup>a</sup>	1,02 <sup>ab</sup>	0,97 <sup>b</sup>	0,91 <sup>b</sup>	1,01	0,02	<0,001	0,532
Cáprico	C 10:0	2,80 <sup>a</sup>	2,10 <sup>ab</sup>	2,27 <sup>b</sup>	2,03 <sup>b</sup>	2,12	0,08	<0,001	0,563
Laúrico	C 12:0	3,44 <sup>a</sup>	2,85 <sup>ab</sup>	2,71 <sup>b</sup>	2,37 <sup>b</sup>	2,84	0,11	<0,001	0,478
Mirístico	C 14:0	11,79 <sup>a</sup>	10,28 <sup>ab</sup>	9,90 <sup>b</sup>	9,05 <sup>b</sup>	10,25	0,26	<0,001	0,479
Pentadecílico	C 15:0	0,25 <sup>a</sup>	0,22 <sup>ab</sup>	0,22 <sup>ab</sup>	0,18 <sup>b</sup>	0,21	0,01	0,001	0,781
Palmitico	C 16:0	32,42 <sup>a</sup>	29,17 <sup>b</sup>	28,01 <sup>b</sup>	28,05 <sup>b</sup>	29,41	0,42	<0,001	0,023
Palmitoléico	C16:1	1,23	1,17	1,20	1,17	1,19	0,04	0,644	0,875
Heptadecanóico	C17:0	0,43 <sup>a</sup>	0,38 <sup>ab</sup>	0,35 <sup>b</sup>	0,31 <sup>b</sup>	0,36	0,01	<0,001	0,831
Esteárico	C18:0	13,03 <sup>b</sup>	15,21 <sup>ab</sup>	15,41 <sup>ab</sup>	16,14 <sup>a</sup>	14,94	0,45	0,002	0,282
Vacênico <i>trans</i> -11	C18:1	0,18	0,11	0,10	0,11	0,12	0,01	0,152	0,219
Oléico <i>cis</i> -9	C18:1	20,85 <sup>a</sup>	24,12 <sup>ab</sup>	25,79 <sup>b</sup>	25,63 <sup>b</sup>	24,09	0,54	<0,001	0,094
Linoléico <i>cis</i>	C18:2	2,49 <sup>c</sup>	3,13 <sup>b</sup>	3,36 <sup>b</sup>	4,05 <sup>a</sup>	3,25	0,11	<0,001	0,887
Linolênico	C18:3	0,14 <sup>c</sup>	0,21 <sup>b</sup>	0,24 <sup>b</sup>	0,31 <sup>a</sup>	0,22	0,01	<0,001	0,964
Araquídico	C20:0	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,01	0,842	0,849
Araquidônico	C20:4	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,01	0,188	0,047
CLA <sup>3</sup> <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11		0,25	0,20	0,21	0,20	0,21	0,01	0,020	0,116
CLA <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,01	0,187	0,323
C16		32,42 <sup>a</sup>	29,17 <sup>b</sup>	28,01 <sup>b</sup>	28,05 <sup>b</sup>	29,41	0,42	<0,001	0,023
>C16		48,63	51,78	52,68	52,68	56,30	1,24	0,052	0,919
<C16		19,97	18,73	17,66	18,17	18,63	0,72	0,087	0,931
Total C18									
Sat <sup>4</sup> C18:0		13,03 <sup>b</sup>	15,21 <sup>ab</sup>	15,41 <sup>ab</sup>	16,14 <sup>a</sup>	14,94	0,45	0,002	0,282
Ins <sup>5</sup> C18:0		28,90	30,86	30,10	31,29	30,29	0,70	0,186	0,717
Ins/sat C18:0		2,20	2,52	2,62	2,63	2,49	0,09	0,052	0,325
Total									
Sat		68,73 <sup>a</sup>	64,78 <sup>ab</sup>	63,04 <sup>b</sup>	62,20 <sup>b</sup>	64,68	0,61	<0,001	0,169
Ins		25,17 <sup>b</sup>	28,98 <sup>ab</sup>	30,92 <sup>a</sup>	31,51 <sup>a</sup>	29,14	0,61	<0,001	0,152
Relação Ins/Sat		0,37 <sup>b</sup>	0,45 <sup>ab</sup>	0,49 <sup>a</sup>	0,51 <sup>a</sup>	0,45	0,01	<0,001	0,224

<sup>1</sup>Controle (C); G9, G18 e G27 se referem a inclusão de, respectivamente, 9, 18 e 27% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca, <sup>2</sup>Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed; <sup>3</sup>CLA: Ácido linoléico conjugado; <sup>4</sup>Sat: Saturado; <sup>5</sup>Ins: Insaturado.

Houve efeito linear decrescente ( $P < 0,05$ ) para a quantidade de ácidos graxos saturados totais e efeito linear crescente ( $P < 0,05$ ) para a concentração de ácidos graxos insaturados e sobre a relação insaturado:saturado total. Isso mostra que as dietas contendo grão de soja rico em ácidos graxos insaturados alteram a concentração dos AG totais do leite, aumentando a quantidade de AG insaturados do leite.

Quando se avalia o processo de inclusão e digestão de gordura em ruminantes, a maioria dos ácidos graxos é modificada através do metabolismo ruminal, dessa forma a biohidrogenação normalmente não é completa, resultando em ampla variedade de ácidos graxos (BYERS e SCHEHING, 1993). Assim, quando ocorre biohidrogenação incompleta de ácidos graxos poliinsaturados, aumenta o fluxo duodenal de ácidos graxos C18:1 *trans* e ácido linoléico conjugado CLA *cis*-9, *trans*-11 e CLA *trans*-10, *cis*-12, apresentando o último comprovado efeito inibidor sobre a síntese de gordura do leite (BAUMAN e GRIINARI, 2003; PETERSON et al., 2002).

Barletta (2010) observou aumento na concentração de C18:0 saturado, de forma semelhante a este estudo e não obteve diferença no total de ácidos graxos saturados e insaturados mesmo utilizando uma concentração de até 24% de grão de soja nas rações experimentais.

Naves (2010) avaliando a inclusão de 20% de grão de soja nas rações experimentais observou um aumento na quantidade de ácidos graxos insaturados o que condiz com o resultado desse estudo.

Com pode ser observado no experimento a adição de grão de soja cru e integral nas dietas alterou o perfil de ácidos graxos da gordura do leite, aumentando os teores de C 18:0 que o produto final da biohidrogenação, também foi verificado aumento nas concentrações de C18:2 *cis*. Estes resultados podem ser atribuídos a maior proteção de ácidos graxos insaturados na forma de grão integral favorecendo a maior passagem de C 18:2 *cis* para a



absorção no abomaso e a não formação dos CLAs *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12, o que demonstra a proteção e lenta liberação de lipídeos, contidas no grão de soja, não superando assim a capacidade de biohidrogenação ruminal.

## 6.7 Balanço de Energia

Em relação ao consumo de energia foi observado efeito linear crescente ( $P > 0,05$ ) da energia líquida de lactação e na energia bruta (Tabela 12). Estes resultados estão de acordo o consumo de extrato etéreo e pelo consumo de energia digestível apresentado e também pelo comportamento da produção de energia líquida de lactação e de ganho quando avaliadas as rações experimentais.

Ao se avaliar a produção de energia foi observado efeito linear decrescente ( $P < 0,05$ ) para energia líquida de ganho de produção e no balanço de energia, as rações C, G9 e G18 tiveram resultados semelhantes diferindo da dieta G27 (Tabela 12), isso mostra que a exigência de energia dos animais dessa fase foram menores com a quantidade de extrato etéreo fornecido pela dieta 27%, sendo assim, o balanço energético foi menor para essa dieta.

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

Tabela 12 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) para o balanço de energia em função das rações experimentais.

Parâmetros	Rações experimentais <sup>1</sup>				Média	EPM	P <sup>2</sup>	
	C	G9	G18	G27			L	Q
<i>Consumo</i>								
EB <sup>3</sup> (Mcal/dia)	65,37 <sup>b</sup>	66,98 <sup>b</sup>	68,35 <sup>b</sup>	71,48 <sup>a</sup>	68,04	1,23	0,024	0,719
ED <sup>4</sup> (Mcal/dia)	32,79	32,88	34,71	34,26	33,66	1,19	0,360	0,858
EL <sub>L</sub> <sup>5</sup> (Mcal/dia)	34,34 <sup>b</sup>	35,16 <sup>a</sup>	35,95 <sup>a</sup>	37,39 <sup>a</sup>	35,71	0,67	0,029	0,773
<i>Produção</i>								
EL <sub>L</sub> <sup>6</sup> (Mcal/dia)	15,82	15,28	16,69	16,61	16,10	0,71	0,190	0,776
MPCV(kg/dia)	0,42	0,37	0,31	0,31	0,36	0,05	0,415	0,820
ELg <sup>7</sup> (g)	11,22 <sup>a</sup>	10,88 <sup>a</sup>	8,66 <sup>a</sup>	7,69 <sup>b</sup>	9,61	0,72	0,008	0,796
<i>Balanço de energia</i>								
EL <sup>8</sup>	10,02 <sup>a</sup>	10,05 <sup>a</sup>	9,96 <sup>a</sup>	9,87 <sup>b</sup>	9,97	0,12	0,035	0,453
<i>Eficiência energética</i>								
EL <sub>P</sub> <sup>9</sup> /CED	0,80	0,75	0,80	0,75	0,48	0,02	0,383	0,539
EL <sub>L</sub> /CED	0,48	0,44	0,50	0,51	0,48	0,02	0,020	0,736

<sup>1</sup>Controle (C); G9, G18 e G27 se referem a inclusão de, respectivamente, 9, 18 e 27% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca, <sup>2</sup>Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed;

<sup>3</sup> Consumo de Energia Bruta (CEB);

<sup>4</sup>Consumo de Energia Digestível (CED);

<sup>5</sup>Consumo de Energia Metabolizada (CEM);

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

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

<sup>8</sup> ELg (Variação de peso corporal) calculado pelas fórmulas do NRC (2001).

<sup>9</sup>  $EL_P = EL$  (consumo) -  $EL$  (ganho PV) -  $EL$  (leite).

<sup>10</sup>  $EL_L$  para desempenho de lactação = ( $EL$  produção de leite +  $EL$  ganho de PV).

Barletta (2010) não observou alteração das energias de consumo devido ao menor consumo de matéria seca e pelo aumento de consumo de extrato etéreo da dieta, compensando o balanço de energia. A eficiência de energia líquida foi menor com o aumento da inclusão de grão de soja, mostrando um maior consumo de energia digestível, diferindo dos resultados encontrados neste estudo.

## 6.8 Balanço de Nitrogênio

Os valores médios e os coeficientes de variação para os consumos de compostos nitrogenados totais (NT), a excreção de compostos nitrogenados totais nas fezes (N-fecal), na

urina (N-urina) e no leite (N-leite), o balanço de nitrogênio (BN) e a eficiência de utilização de nitrogênio obtidas para as rações experimentais são apresentados na (Tabela 13).

Tabela 13 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) para balanço de nitrogênio em função das rações experimentais.

Variável	Rações experimentais <sup>1</sup>				Médias	EPM	P <sup>2</sup>	
	C	G9	G18	G27			L	Q
	<i>Consumo (g/dia)</i>							
Nitrogênio Total	551,31	547,06	562,13	533,12	548,40	7,48	0,273	0,125
	<i>Excreção (g/dia)</i>							
Fecal	217,77	229,18	233,36	233,59	228,47	10,80	0,271	0,590
Urinário	143,46	139,86	128,15	131,87	135,83	6,11	0,386	0,759
Leite	108,05	106,95	106,44	99,34	105,19	4,51	0,066	0,154
	<i>Balanço (g/dia)</i>							
Nitrogênio	78,86	74,28	77,39	71,53	75,51	11,82	0,987	0,498
	<i>Excreção (% Nitrogênio Total)</i>							
Fecal	39,06	41,52	41,39	42,71	41,17	1,61	0,114	0,705
Urinário	26,05	25,54	22,80	24,49	24,72	1,07	0,448	0,613
Leite	19,58	19,55	19,22	18,64	19,24	0,78	0,057	0,397
	<i>Balanço (% Nitrogênio Total)</i>							
Nitrogênio	14,66	14,05	14,23	14,81	14,43	2,21	0,769	0,742
	<i>g Nitrogênio no Leite/g Nitrogênio Consumido</i>							
Eficiência	0,19	0,19	0,19	0,18	0,18	0,01	0,081	0,217

<sup>1</sup>Controle (C); G9, G18 e G27 se referem a inclusão de, respectivamente, 9, 18 e 27% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca, <sup>2</sup> Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed.

Não foi observado efeito para consumo de nitrogênio total, apesar de ocorrer aumento numérico do consumo de proteína bruta (Tabela 5). Não houve efeito para excreção de nitrogênio na urina, no leite e nas fezes (g/dia), estes dados estão de acordo com o consumo de proteína bruta observado nas dietas experimentais no que diz respeito ao consumo de nitrogênio total. As concentrações de nitrogênio uréico no soro e uréia (Tabela 14) podem justificar a excreção de nitrogênio na urina (Tabela 13), e a excreção de nitrogênio no leite está diretamente relacionada com a produção de proteína no leite (Tabela 10). Os balanços de

nitrogênio em g/dia e % NT não apresentaram efeito sendo isso relacionado na excreção de grão de soja nas fezes e o alto consumo de proteína bruta.

Spanghero e Kowalski (1997) realizaram compilação de dados utilizando o modelo de meta-análise, e avaliaram 35 experimentos e 135 rações diferentes, com média de consumo de matéria seca de 17,6 Kg/dia, e produção média de leite de 26,1 Kg/dia. Estes autores avaliaram o balanço de nitrogênio em vacas leiteiras e verificaram valores médios de balanço de nitrogênio de 39 g/dia.

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

Barletta (2010) observou uma diminuição no consumo de NT com a inclusão do grão de soja relacionado a diminuição do consumo de matéria seca. Já Naves (2010) avaliando a inclusão de 20% de grão de soja na dieta, não obteve nenhum efeito no balanço de nitrogênio relacionando com o coeficiente de digestibilidade da proteína bruta.

## 6.9 Parâmetros Sanguíneos

Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre as rações experimentais para as concentrações no soro de glicose, uréia, nitrogênio uréico, proteínas totais, albumina e gama glutamil transferase (GGT) (Tabela 14).

Foi observado efeito linear crescente ( $P < 0,05$ ) para as concentrações de colesterol total e colesterol HDL (Tabela 14). Quando foram comparadas as médias, para concentração de colesterol total, foi observado maior valor para a ração G27 e G18 em relação as demais dietas, sendo C diferente de G9 (Tabela 14). Este aumento da concentração do colesterol HDL

no lipidograma do soro pode ser justificado devido ao maior consumo de ácidos graxos nas rações, que proporcionou aumento das respectivas frações relativas ao metabolismo de lipídeos transportadas no sangue.

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

Tabela 14 – Médias ajustadas e erro padrão da média (EPM) dos metabólitos plasmáticos em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais <sup>1</sup>				Médias	EPM	P <sup>2</sup>	
	C	G9	G18	G27			L	Q
	<i>mg/dL</i>							
Glicose	69,38	66,84	66,77	70,15	68,28	0,86	0,746	0,057
Colesterol	205,77 <sup>c</sup>	234,53 <sup>b</sup>	265,53 <sup>a</sup>	274,15 <sup>a</sup>	244,99	6,15	<0,001	0,041
C-HDL <sup>3</sup>	73,00 <sup>b</sup>	90,92 <sup>a</sup>	87,29 <sup>a</sup>	89,42 <sup>a</sup>	85,15	2,49	0,020	0,068
Uréia	38,47	42,30	40,92	42,42	41,02	0,79	0,062	0,346
NUS <sup>4</sup>	17,98	19,77	19,13	19,82	19,17	0,37	0,062	0,341
	<i>g/L</i>							
Proteínas Totais	5,29	5,19	5,35	5,28	5,27	0,07	0,758	0,905
Albumina	2,07	2,14	2,20	2,18	2,14	0,03	0,210	0,542
	<i>U/L</i>							
AST <sup>5</sup>	60,40	61,50	66,75	61,75	62,60	1,45	0,281	0,114
GGT <sup>6</sup>	5,70	5,40	5,76	5,46	5,58	0,14	0,715	1,000

<sup>1</sup>Controle C; G9, G18 e G27 se referem a inclusão de, respectivamente, 9, 18 e 27% de grão de soja cru integral na ração, na matéria seca; <sup>2</sup> Probabilidades de resposta linear (L), ou quadrática (Q), Médias seguidas de letras diferentes nas linhas se diferem em 5% no Teste de Tukey ajustado pelo Proc Mixed; <sup>3</sup>C-HDL: Colesterol – lipoproteína de alta densidade; <sup>4</sup>NUS: Nitrogênio uréico no soro; <sup>5</sup>AST: aspartato aminotransferase; <sup>6</sup>GGT: gama glutamil transferase.

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

aumento da concentração de triglicérides em vacas que receberam misturas de ácidos graxos de cadeia longa no abomaso.

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

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

Barletta (2010) observou aumento do colesterol e do colesterol-HDL com o aumento da inclusão de grão de soja nas rações, sendo a dieta com 24%, com 251,84 e 143,15 mg/dL, respectivamente. Naves (2010) observou aumento do colesterol e colesterol-HDL com a inclusão de 20% de grão de soja na dieta, estes resultados condizem com o presente estudo.

As concentrações dos parâmetros sanguíneos foram alterados pelas dietas com inclusão de grão de soja, especialmente o colesterol total e HDL. Entretanto a inexistência de variações das enzimas hepáticas AST, GGT e FA, indica que neste estudo os animais em lactação suplementados com grão de soja cru e integral no nível de até 27% de inclusão na MS da dieta, não sofreram alterações consideráveis no tecido hepático durante o metabolismo de gordura, demonstrando o potencial.

## **7 CONCLUSÕES**

A utilização de grão de soja no nível de inclusão de até 27% de grão de soja integral na MS das dietas de vacas no final de lactação e com produção média de leite de 23,99 Kg/dia se mostrou viável por ter alterações sutis no desempenho produtivo e metabolismo dos animais.

## REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL, 2010. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, p. 462-485, 2011.
- ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1598-1630, 2000.
- ÁVILA, C. D.; DePETERS, E. J.; PEREZ-MONTI, H.; TAYLOR, S. J.; ZINN, R. A. Influences of saturation ratio of supplemental dietary fat on digestion and milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1505–1519, 2000.
- BARLETTA, R.. V. **Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras**. Pirassununga, SP: USP, 2010. 96p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade de São Paulo, 2010.
- BATEMAN, H. G.; JENKINS, C. Influence of soybean oil in high fiber diets fed to non lactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 81 n. 9, p. 2451-2458, 1998.
- BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v. 70, p. 15–29, 2001.
- BAUMAN, D. E; GRIINARI, J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v. 23, p. 203-227, 2003.
- BAUMAN, D. E.; LOCK, A. L. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows. In: **Tri-State Dairy Nutrition Conference 15**, 2006, West Lafayette, Cornell University, proceedings... 2006.14 p.
- BEN SALEM, H.; KRZEMINSKI, R.; FERLAY, A.; DOREAU, M. Effect of lipid supply on in vivo digestion in cows: comparison of hayand corn-silage diets. **Canada Journal Animal Science**, v. 73, p. 547–557, 1993.
- BERNARD, J. K. Effect of raw or roasted whole soybeans on digestibility of dietary nutrients and milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 11, p. 3231-3236, 1990.
- BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various specie. **Physiological Review**, 70-567, 1990.



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

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

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

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

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

CASALI, A. O.; DETMAN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, J.C.; HENRIQUES, L.T.; FREITAS, S.G., PAULINO, M.F. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos in situ. **R. Bras. Zootec.**, vol.37, no.2, Viçosa, 2008.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

GRUMMER, R. R. Gordura da dieta: Fonte energética e/ou regulador metabólico? In: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 8, 2004, Uberlândia. **Anais ... Uberlândia: CONAPEC Jr- UNESP – BOTUCATU**, p.83-108, 2004.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

LEITE, L. C.; LANNA, D. P. D. Avanços no estudo do metabolism de lipídeos: Perfil da gordura depositada na carne ou secretada no leite de ruminantes. In: SILVA, L. F. P.; RENNÓ, F. P. **II Simpósio Internacional Avanços em Técnicas de Pesquisa em Nutrição de Ruminantes**. Ed. 5D, v. 1, p. 147-164, 2009.

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

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

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

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

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

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

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

NAVES, A. B. **Utilização de grão de soja integral e processado em rações de vacas em lactação**. Pirassununga, SP: USP, 2010. 73p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade de São Paulo, 2010.

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

NRC. **National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7. Ed. Washinton, D.C.: national academic press, 2001. 381 p.

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

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

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

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

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

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

PALMQUIST, D. L. The feeding value of fats. In: Orskov, e. R. (ed.). **World Animal Science**. B. Disciplinary approach. 4. Feed Science. Amsterdam: elsevier, 1988. p. 293-311.

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

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

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

PEHRSON, B. Milk analysis, nutritional and disease status of dairy cows. **In: Recent Developments in Ruminant Nutrition 4**, Journal Wiseman. PC Garnsworthy, Nottingham University Press, 600p., 2002.

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

PETERSON, D. G.; BAUMGARD, L. H.; BAUMAN, D. E. Short communication: Milk fat response to low doses of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA). **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 1764-1766, 2002.

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

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

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

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

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

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

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

SAS INSTITUTE, INC. **SAS SYSTEM User's Guide** – Online Doc. v.9.0, Cary, NC, 2009.

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

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

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

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

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

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

STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R. Fat supplementation strategies for lactating dairy cow diets. **In: Simpósio Internacional de Bovinocultura de Leite**, 2., 2001, lavras. Anais... Lavras:ufla, 2001. p. 161-178.

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

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

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

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

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

VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. Viçosa, MG: UFV, 2010. 329p.



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

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

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

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

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

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