

# **UTILIZAÇÃO DE FONTES DE GORDURA EM DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE FIBRA PARA VACAS EM LACTAÇÃO**

**SIMONE GISELE DE OLIVEIRA**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração: Ciência Animal e Pastagens.

**PIRACICABA**  
Estado de São Paulo - Brasil  
Dezembro - 2001

**UTILIZAÇÃO DE FONTES DE GORDURA EM DIETAS COM  
DIFERENTES NÍVEIS DE FIBRA PARA VACAS EM  
LACTAÇÃO**

**SIMONE GISELE DE OLIVEIRA**

Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. **FLÁVIO AUGUSTO PORTELA SANTOS**

Dissertação apresentada à Escola Superior de  
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de  
São Paulo, para obtenção do título de Mestre  
em Agronomia, Área de Concentração: Ciência  
Animal e Pastagens.

PIRACICABA  
Estado de São Paulo - Brasil  
Dezembro - 2001

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Oliveira, Simone Gisele de

Utilização de fontes de gordura em dietas com diferentes níveis de fibra para vacas em lactação / Simone Gisele de Oliveira. – Piracicaba, 2001.

71 p.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2001.  
Bibliografia.

1. Dieta animal 2. Fibras 3. Lactação animal 4. Suplementos alimentícios para animais 5. Vacas I. Título

CDD 636.2085

**“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”**

À Deus, por me conduzir sempre pelo melhor caminho.

## **OFEREÇO**

Ao meu pai, Salvador

À minha mãe, Maria

Ao meu irmão, Daniel

À minha avó, Izabel

Aos meus familiares e amigos

Pelo amor, apoio e compreensão

## **DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, em especial ao Departamento de Produção Animal - Setor de Ruminantes pela oportunidade de realização do curso.

Ao Prof. Dr. Flávio Augusto Portela Santos pela acolhida, orientação, confiança e ensinamentos.

Ao Dr. José Manuel Correa de Simas pela valiosa colaboração, confiança e sugestões.

Ao Prof. Dr. Wilson Roberto Soares Mattos pelo exemplo de conduta pessoal.

Aos demais professores do Departamento de Produção Animal pela colaboração e ensinamentos.

Ao técnico de laboratório Carlos César Alves pela paciência e orientação tornando possível a condução das análises laboratoriais.

Ao CNPq pela concessão de bolsa de estudos no transcorrer do curso.

Aos estagiários Carlos Eduardo (Balantines), Fábio César (Kovero) e Ana Carolina (Arriada) pela amizade e imprescindível colaboração durante a execução do experimento.

Aos funcionários do Departamento de Produção Animal pela colaboração na execução do projeto.

À Universidade Federal de Lavras pela minha formação.

Aos colegas de pós-graduação, em especial aos amigos Mário Márcio Arakaki Rabelo e Rodrigo Michelini Coelho, pela amizade e companheirismo, e Hugo Imaizumi pela valiosa ajuda em diversos momentos.

Às amigas Lyssa Otani e Tathyana de Abreu Batista Chaves pelo feliz período em que convivemos.

Aos meus pais Salvador e Maria, meu irmão Daniel, minha avó Izabel e todos meus familiares e amigos pelo amor, apoio constante e compreensão pelos muitos momentos de ausência.

À Deus, por se fazer presente em todos os momentos da minha vida.

**OBRIGADA**

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE QUADROS.....	x
LISTA DE TABELA.....	xi
LISTA DE ABREVIACOES.....	xii
RESUMO.....	xiii
SUMMARY.....	xv
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1 Lipídeos na dieta de ruminantes .....	3
2.1.1 Lipólise e biohidrogenao .....	5
2.1.2 Utilizao de gordura inerte no rúmen.....	7
2.1.3 Digestão e absoro intestinal.....	8
2.2 Efeito dos lipídeos na digestão.....	11
2.3 Produo e composio do leite .....	12
2.4 Perfil da gordura do leite .....	14
2.4.1 cidos graxos $\omega$ -3 .....	14
2.4.2 cido linoléico conjugado e ácidos graxos <i>trans</i> .....	17
2.5 Relao forragem:concentrado .....	20
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	24

3.1	Localização, animais e instalações experimentais.....	24
3.2	Período experimental.....	24
3.3	Tratamentos.....	25
3.4	Coleta de dados.....	26
3.4.1	Coleta de oferecido e sobras: determinação do CMS e consumo de nutrientes.....	26
3.4.2	Coleta de conteúdo duodenal: digestibilidade de nutrientes e fluxo de proteína microbiana.....	27
3.4.3	Coleta de fezes: determinação da digestibilidade aparente no trato digestivo total.....	27
3.4.4	Análises laboratoriais.....	28
3.5	Controle e coleta de leite: produção e composição.....	29
3.6	Coleta de fluido ruminal: determinação de pH, N-NH <sub>3</sub> e AGV.....	29
3.7	Coleta de sangue: determinação de AGL.....	30
3.8	Análise estatística.....	31
4	RESULTADOS.....	34
4.1	Composição das dietas experimentais.....	34
4.2	Consumo de matéria seca, matéria orgânica e nutrientes.....	35
4.3	Produção e composição do leite.....	36
4.4	Ácidos graxos não esterificados.....	37
4.5	Parâmetros ruminais.....	38
4.5.1	Concentração ruminal de nitrogênio amoniacal (N-NH <sub>3</sub> ) no rúmen.....	38
4.5.2	pH Ruminal.....	40
4.5.3	Concentração ruminal de AGV totais.....	41
4.5.4	Concentração ruminal de ácido acético.....	43
4.5.5	Concentração ruminal de ácido propiônico.....	44
4.5.6	Relação Acetato:Propionato.....	46



4.5.7 Concentração ruminal de ácido butírico .....	47
4.5.8 Efeito dos tratamentos sobre os parâmetros ruminais.....	49
4.6 Digestibilidade da matéria seca e nutrientes.....	50
5 DISCUSSÃO.....	51
6 CONCLUSÕES.....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
APÊNDICE .....	68

## LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Variação diurna da concentração de nitrogênio amoniacal para cada tratamento nos diferentes horários de coleta.....	39
2 Variação diurna de pH para cada tratamento nos diferentes horários de coleta.....	41
3 Variação diurna da concentração de AGV total para cada tratamento nos diferentes horários de coleta.....	42
4 Variação diurna da concentração de ácido acético para cada tratamento nos diferentes horários de coleta.....	44
5 Variação diurna da concentração de ácido propiônico para cada tratamento nos diferentes horários de coleta.....	45
6 Variação diurna na relação acetato:propionato para cada tratamento nos diferentes horários de coleta.....	47
7 Variação diurna da concentração de ácido butírico para cada tratamento nos diferentes horários de coleta.....	48

## LISTA DE QUADROS

	Página
1 Composição de ácidos graxos para a semente de linhaça e óleo de soja.....	3
2 Composição das dietas experimentais.....	26
3 Quadro esquemático de análise de variância para consumo, produção e composição do leite e AGL.....	32
4 Quadro esquemático de análise de variância para parâmetros ruminais.....	32
5 Composição nutricional das dietas experimentais.....	34

## LISTA DE TABELAS

	Página
1 Efeito do nível de concentrado e adição de gordura sobre consumo de MS, MO e nutrientes. ....	35
2 Efeito do nível de concentrado e adição de gordura na produção e composição do leite.....	37
3 Efeito do nível de concentrado e adição de gordura sobre a concentração plasmática de AGL. ....	38
4 Efeito do nível de concentrado e adição de gordura em cada tempo de coleta sobre a concentração de N-NH <sub>3</sub> ruminal.....	39
5 Efeito do nível de concentrado e adição de gordura em cada tempo de coleta sobre o pH ruminal.....	40
6 Efeito do nível de concentrado e adição de gordura em cada tempo de coleta sobre a concentração de AGV totais no fluido ruminal (mM). ....	42
7 Efeito do nível de concentrado e adição de gordura em cada tempo de coleta sobre a concentração de ácido acético no fluido ruminal (mM).....	43
8 Efeito do nível de concentrado e adição de gordura em cada tempo de coleta sobre a concentração de ácido propiônico no rúmen (mM). ....	45
9 Efeito do nível de concentrado e adição de gordura em cada tempo de coleta sobre a relação acetato:propionato no rúmen (mM). ....	46
10 Efeito do nível de concentrado e adição de gordura em cada tempo de coleta sobre a concentração de ácido butírico no rúmen (mM). ....	48
11 Efeito do nível de concentrado e adição de gordura sobre os parâmetros ruminais.....	49

## LISTA DE ABREVIações

**AG** - Ácidos graxos

**AGL** - Ácidos graxos livres

**AGV** - Ácidos graxos voláteis

**CLA** - Ácido linoleico conjugado

**CMS** - Consumo de matéria seca

**EE** - Extrato etéreo

**ELI** - Energia líquida de lactação

**FDA** - Fibra insolúvel em detergente ácido

**FDN** - Fibra insolúvel em detergente neutro

**MM** - Matéria mineral

**MO** - Matéria orgânica

**MS** - Matéria seca

**PB** - Proteína bruta

# **UTILIZAÇÃO DE FONTES DE GORDURA EM DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE FIBRA PARA VACAS EM LACTAÇÃO**

Autora: Simone Gisele de Oliveira

Orientador: Dr. Flávio Augusto Portela Santos

## **RESUMO**

O aumento da densidade energética da dieta e proporção de ácidos graxos (AG) insaturados na gordura do leite são alguns dos benefícios associados à suplementação lipídica. Este experimento foi conduzido com o objetivo de se avaliar o efeito da inclusão de fontes de gordura insaturada em dietas com diferentes níveis de fibra sobre a fermentação ruminal, concentração de AGL no sangue e produção e composição do leite. Foram utilizadas 5 vacas da raça Holandesa canuladas no rúmen e duodeno proximal, com média de 101 dias em lactação, produzindo cerca de 22,6 kg/d em um delineamento em Quadrado Latino 5 X 5. As fontes de gordura utilizadas foram a semente de linhaça e óleo de soja, sendo as dietas à base de silagem de milho. Os tratamentos consistiram em: 1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, 2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, 3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, 4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e 5 - 60% de concentrado com óleo de soja. O pH ruminal foi reduzido e a concentração molar de propionato e butirato aumentaram em função da maior

inclusão de grãos à dieta. Houve redução nas concentrações molares de acetato e butirato decorrente da adição de semente de linhaça à dieta. A maior concentração de  $\text{N-NH}_3$  ruminal foi encontrada para o tratamento com menor nível de fibra na dieta com adição de semente de linhaça. A concentração de AGL no sangue foi maior em dietas com alto nível de fibra. A produção de leite não foi afetada pelos tratamentos ( $P < 0,05$ ), havendo uma tendência de queda ( $P < 0,20$ ) no teor de gordura de leite e uma redução ( $P < 0,05$ ) no teor de proteína quando os animais receberam a dieta contendo óleo de soja. O fornecimento de semente de linhaça nos diferentes níveis de inclusão de concentrado à dieta não apresentou benefícios na produção e composição do leite, havendo um efeito negativo da adição de óleo de soja em relação ao teor de proteína e gordura do leite.

# **DIFFERENTS FAT SOURCE SUPPLEMENTATION IN HIGH AND LOW GRAIN DIETS FOR LACTATING DAIRY COWS**

Author: Simone Gisele de Oliveira

Adviser: Dr. Flávio Augusto Portela Santos

## **SUMMARY**

The objective of this study was to evaluate the effect of supplemental polyunsaturated fatty acids for lactating cows fed different fiber levels. Five lactating Holstein cows cannulated in the rumen and proximal duodenum, averaging 101 days in milk, were used in a 5 x 5 latin square design to evaluate milk yield and composition, rumen fermentation and non esterified fatty acid (NEFA) in the blood. Cows were fed corn silage as forage source and fat sources used were linseed and soybean oil. The treatments were: T1 - 40% concentrate without linseed, T2 - 60% concentrate without linseed, T3 - 40% concentrate with linseed, T4 - 60% concentrate with linseed and T5 - 60 % concentrate with soybeans oil. Milk production was not affected ( $P>0,05$ ) by treatments. There was a tendency for reduction of fat content and a significant decrease in milk protein content ( $P<0,05$ ) for cows fed diets with soybean oil. NEFA and ruminal pH decrease and propionate, butyrate e  $N-NH_3$  concentration increased in diets with higher concentrates levels. Ruminal acetate e butyrate concentration decrease in linseed supplemented diet. Feeding



linseed did not improve milk production or composition and soybean oil had a negative impact in fat and protein milk content.

## 1 INTRODUÇÃO

A demanda energética dos animais com o progresso do melhoramento genético vem aumentando a uma velocidade cada vez maior em relação aos recursos e conhecimentos disponíveis que possibilitem a tais animais uma ingestão adequada de nutrientes (Sutton, 1989). Diante deste contexto torna-se imprescindível estudos que mostrem novas possibilidades de suplementação ou mesmo indiquem uma melhor utilização dos recursos já empregados.

A utilização de fontes de gordura é uma prática nutricional que vem sendo bastante utilizada e pode proporcionar diversos benefícios nutricionais para vacas de alta produção. A gordura pode aumentar a densidade energética da dieta, melhorar a eficiência energética de produção de leite (Smith, 1990), conter ácidos graxos essenciais e melhorar a absorção de compostos lipossolúveis (Church, 1988).

Hoje, além dos estudos direcionados para o aumento da produção animal, as pesquisas voltadas para a melhoria na qualidade, em termos de composição do produto, também se fazem importantes. Os trabalhos com fontes de gordura e/ou manipulação do ambiente ruminal são necessários pelo interesse que despertam por parte dos pesquisadores em produzir alimentos de origem animal diferenciados e pela demanda do mercado consumidor em obter tais produtos.

Entre os componentes do leite, a gordura é o mais facilmente manipulado pela dieta, em termos de quantidade e composição. A suplementação com gordura, em algumas circunstâncias, pode afetar o padrão

de fermentação ruminal alterando o perfil de ácidos graxos no leite (Chilliard, 1993)

Os lipídeos fornecidos na dieta são modificados no rúmen através da lipólise e biohidrogenação, tornando os ácidos graxos que fluem para o intestino delgado mais saturados. Porém, a biohidrogenação não é um processo completo, resultando em uma ampla variedade de ácidos graxos insaturados (Church, 1988). Dois dos mais importantes intermediários do processo de biohidrogenação são *trans*-11 C<sub>18:1</sub> e *cis*-9, *trans*-11 C<sub>18:2</sub>, este último denominado ácido linoléico conjugado - CLA (Palmquist, 1998). Entender como estes mecanismos, lipólise e biohidrogenação, funcionam pode ser de extrema importância, uma vez que esses processos estão diretamente ligados às alterações entre as características dos lipídeos da dieta e a composição de ácidos graxos da gordura da carne e leite.

A otimização da fermentação ruminal é uma forma para que se possa maximizar a digestibilidade de nutrientes, assim como a produção e composição do leite. Alguns aspectos estão associados ao perfeito funcionamento do ambiente ruminal, entre eles o nível de fibra na dieta, o teor de carboidratos não estruturais e sua taxa de fermentação e finalmente a suplementação com gordura, especialmente as fontes com alta concentração de ácidos graxos insaturados. Todos os aspectos estão ligados à redução na digestibilidade da fibra e passagem de ácidos graxos *trans* para o duodeno (Kalscheur et al., 1997b).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do nível de fibra em dietas com e sem suplementação com fontes de gordura sobre a digestibilidade de nutrientes, produção e composição do leite, parâmetros ruminais e sanguíneos de vacas em lactação.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Lipídeos na dieta de ruminantes

Os lipídeos são compostos orgânicos encontrados em tecidos de plantas e animais constituindo-se de óleos ou gorduras solúveis em solventes orgânicos assim como benzeno, éter ou clorofórmio, e insolúveis em água (Bondi, 1987).

O ácido linoleico (C<sub>18:2</sub>) predomina na maior parte dos lipídeos das sementes, enquanto que nas forragens o ácido linolênico (C<sub>18:3</sub>) encontra-se em maior concentração. O óleo de linhaça se constitui numa exceção possuindo uma alta quantidade (57%) de ácidos graxos C<sub>18:3</sub> (Palmquist & Jenkins, 1980).

O Quadro 1 mostra a composição de ácidos graxos encontrada para a semente de linhaça e óleo de soja.

AG	Sementes de linhaça	Óleo de soja
C16	5,67	11,0
C18	4,15	3,80
C18:1	16,07	23,30
C18:2	17,83	54,50
C18:3	53,83	5,90

Fonte: Hagemester et al., 1991; Chouinard et al., 2001

Quadro 1- Composição de ácidos graxos para a semente de linhaça e óleo de soja.

Os lipídeos em dietas de ruminantes estão presentes principalmente na forma esterificada como mono e digalactoglicerídeos em forragens e como triglicerídeos em alimentos concentrados. Segundo Palmquist & Jenkins (1980) cerca de 3 a 5% de gordura pode ser adicionada a dieta para aumentar a ingestão de energia em vacas de alta produção e/ou reduzir o consumo de amido, possibilitando aumentar assim a relação forragem:concentrado da dieta reduzindo a incidência de distúrbios na fermentação ruminal, o que pode ter reflexos positivos na produção de gordura do leite.

Apesar do total de lipídeos normalmente somar menos de 5% da dieta de ruminantes, eles possuem um papel muito importante no metabolismo energético desses animais quando comparado aos monogástricos. Isso pode ser comprovado quando se constata que a quantidade de ácidos graxos secretada no leite normalmente excede sua ingestão (Palmquist & Jenkins, 1980).

Aumentos no potencial de produção dos animais têm demandado maiores estudos sobre quantidade e fontes de gordura que aumentem a ingestão de energia digestível e seus efeitos no desempenho dos animais. Os resultados de estudos de desempenho com suplementação de gordura são bastante variados e esta variação algumas vezes se deve ao efeito de depressão no consumo causado pelo efeito dos lipídeos no rúmen (NRC, 2001). Alguns estudos têm focado principalmente a manipulação de eventos físico-químicos no rúmen, especialmente em dois aspectos:

- 1 – Avaliação e controle de efeitos negativos causados pela adição de ácidos graxos a dieta de ruminantes, evitando que haja prejuízo da fermentação e digestão.

- 2 – Aumento no fluxo de ácidos graxos insaturados para o intestino delgado com o objetivo de melhorar o desempenho animal assim como reduzir o nível de saturação da gordura da carne e do leite.

As propriedades dos lipídeos que determinam seus efeitos antimicrobianos no rúmen incluem o grau de insaturação, formação de sais de

carboxilato e associação física do lipídeo com superfície da partícula do alimento e microrganismos (Jenkins, 1993). Os aspectos importantes na suplementação de gordura são o tipo de lipídeos e composição de ácido graxos, grau de proteção, digestibilidade e transporte dos ácidos graxos absorvidos e o efeito no metabolismo da glândula mamária (Ashes et al., 1997).

O ambiente ruminal é responsável por algumas transformações nos lipídeos da dieta, alterando com isso sua composição e perfil de ácidos graxos que chega ao duodeno. Estas alterações são decorrentes principalmente da lipólise e biohidrogenação.

A lipólise e a taxa de hidrogenação variam com a qualidade da forragem, área de superfície das partículas de alimento no rúmen e modificações estruturais da molécula de lipídeos que inibem o ataque pela isomerase bacteriana (Jenkins, 1993).

### **2.1.1 Lipólise e biohidrogenação**

No rúmen ocorre uma extensiva hidrólise dos lipídeos esterificados da dieta, onde triglicerídeos, galactolipídeos e fosfolipídeos pela ação de lipases dos microrganismos, liberam ácidos graxos livres permitindo que a galactose e o glicerol sejam fermentados a ácidos graxos voláteis. A lipólise corresponde ao início do processo de metabolismo dos lipídeos no rúmen, sendo imprescindível para que ocorra a biohidrogenação (Harfoot & Hazlewood, 1988).

Os ácidos graxos poliinsaturados, principalmente os ácidos linoléico e linolênico, liberados pela quebra da ligação éster são hidrogenados pelas bactérias, produzindo primeiro o ácido monoenóico e, finalmente, o ácido esteárico (Bondi, 1987).

Segundo Church (1988) nem todas as bactérias possuem atividade lipolítica, o mesmo acontecendo para os protozoários do rúmen. As taxas de lipólise e biohidrogenação são menores em situações de alta concentração de grão na dieta, resultando num maior escape de ácidos graxos insaturados. A

extensão da lipólise é dependente também da natureza do lipídeo da dieta, sendo que óleos de plantas, assim como óleo de linhaça, são quase que completamente hidrolisados (em torno de 90%) enquanto que os óleo de peixes tendem a ser menos hidrolisados (em torno de 50%).

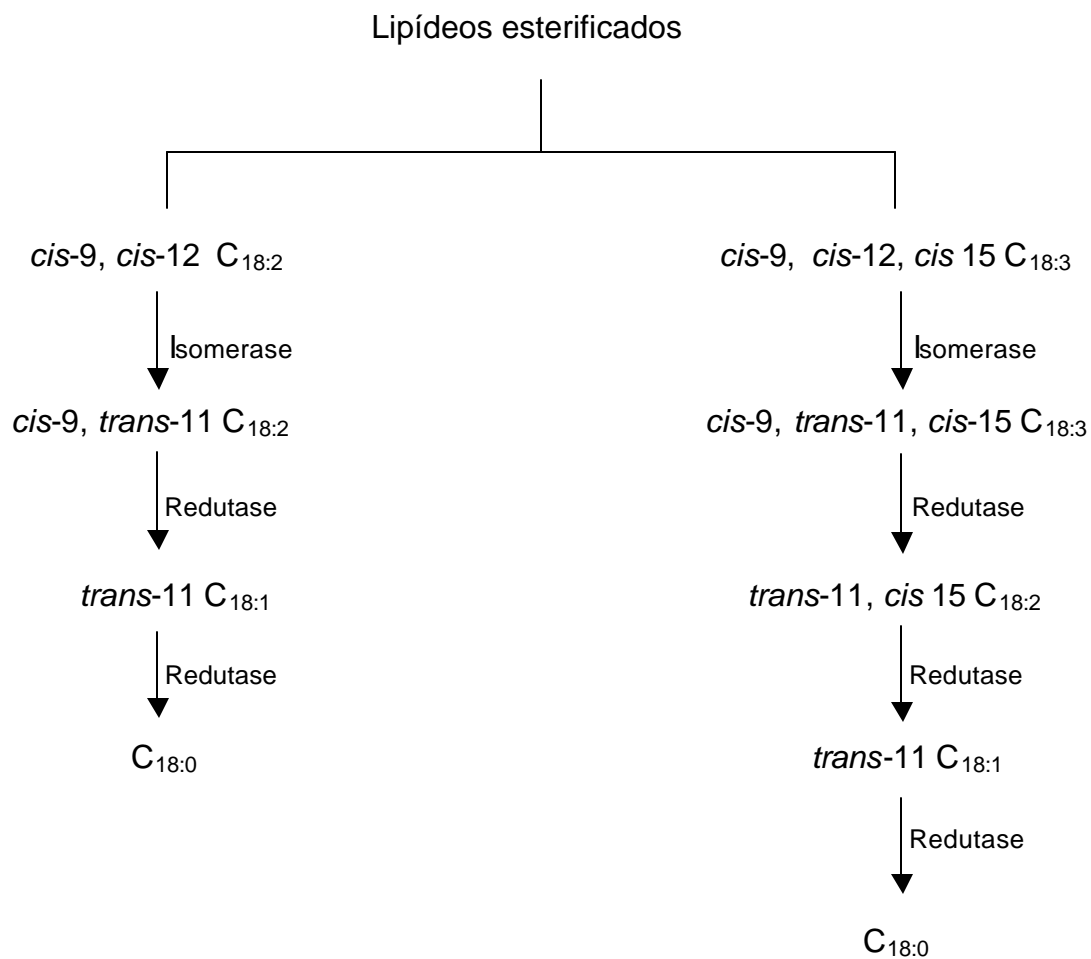
Palmquist & Jenkins (1980) citam que as bactérias celulolíticas por serem as mais afetadas pela suplementação com gordura sejam os microrganismos responsáveis pela biohidrogenação. No entanto, Avila et al. (2000) utilizando sebo e óleo vegetal proveniente de resíduos de frituras de restaurantes como fonte de gordura encontraram um aumento na extensão da biohidrogenação de ácidos graxos C<sub>18</sub>, indicando um metabolismo normal dos microrganismos ruminais. Em revisão realizada por Harfoot & Hazlewood (1988) a adição de carboidratos rapidamente fermentáveis no rúmen não inibiu as taxas de lipólise e biohidrogenação, mas a substituição de fibra por amido resultou na redução dessas taxas, sugerindo também a ação dos microrganismos celulolíticos na biohidrogenação.

As bactérias responsáveis pela biohidrogenação podem ser divididas em dois grupos, A e B. O grupo A é responsável pela biohidrogenação do ácido linoléico (C<sub>18:2</sub>) e ácido linolênico (C<sub>18:3</sub>) a ácido transvacênico (*trans*-11 C<sub>18:1</sub>), com pequenas quantidades de outros isômeros. Este grupo parece ser incapaz de biohidrogenar AG C<sub>18:1</sub> a ácido esteárico (C<sub>18:0</sub>). As bactéria do grupo B, ao contrário das bactérias do grupo A, são capazes de biohidrogenar uma grande extensão de *cis* e *trans* C<sub>18:1</sub> a C<sub>18:0</sub> (Demeyer & Doreau, 1999).

Segundo Czerkawski & Clappertoonn (1984) a biohidrogenação têm um papel de proteção para os microrganismos do efeito tóxico exercido pelos ácidos graxos insaturados. Aparentemente, a biohidrogenação pouco contribui na retirada de hidrogênio do rúmen, cerca de 1 a 2% do hidrogênio metabólico.

O passo inicial para a biohidrogenação é uma reação de isomerização que converte a dupla ligação *cis*-12 no ácido graxo insaturado para o seu isômero *trans*-11. A isomerase não é funcional a menos que o ácido graxo tenha um grupo carboxila livre, o que ocorre no caso de ácidos graxos

poliinsaturados assim como  $C_{18:2}$ . A extensão na qual *trans*-11  $C_{18:1}$  é hidrogenado a  $C_{18:0}$  depende das condições do rúmen (Jenkins, 1993; Demeyer & Doreau, 1999).



Fonte: Harfoot & Hazlewood, 1988

### 2.1.2 Utilização de gordura inerte no rúmen

O termo gordura inerte no rúmen refere-se à redução do efeito negativo que certos lipídeos exercem sobre o metabolismo de protozoários e bactérias no rúmen (Smith, 1990), onde o grau de proteção dos lipídeos deve ser



suficiente para minimizar possíveis efeitos sobre a atividade ruminal (Ashes et al., 1997).

Os sais de cálcio de AG e gorduras saturadas são formas de gordura inertes no rúmen, no entanto as mesmas propriedades físicas que contribuem para a ausência de efeito sobre o metabolismo ruminal também podem refletir em uma redução na absorção intestinal de ácidos graxos (Smith, 1990).

A utilização de AG inertes no rúmen, como os sais de cálcio, é um recurso que pode ser empregado para evitar ou reduzir as modificações na composição dos AG resultantes do metabolismo ruminal (Chouinard et al., 2001). Porém, apenas em situações de alto pH ruminal não ocorre a dissociação dos sais de cálcio de AG insaturados e estes são então parcialmente protegidos da biohidrogenação pela ausência de um grupo carboxila livre. Portanto, para se obter uma maior eficiência de proteção dos sais de cálcio de AG insaturados é necessário manter um pH relativamente alto através da utilização de agentes alcalinizantes ou substâncias tamponantes, aumento da frequência da alimentação ou fornecimento dos sais de cálcio após a alimentação (Van Nevel & Demeyer, 1996b).

### **2.1.3 Digestão e absorção intestinal**

Nos ruminantes a maior parte dos lipídeos que chegam ao duodeno está na forma de ácidos graxos não esterificados, altamente saturados e ligados não ionicamente às partículas dos alimentos como um complexo não solúvel (Church, 1988).

Apesar das alterações ocorridas nos lipídeos da dieta pelo metabolismo ruminal a composição dos lipídeos da dieta (Palmquist, 1991) assim como a forma de apresentação da gordura (Bauchart, 1993) pode afetar a digestibilidade intestinal dos ácidos graxos. O grau de insaturação é provavelmente a mais importante característica que influencia a digestibilidade, provavelmente por afetar a formação de micelas e o movimento dos ácidos

graxos através da camada de água adjacente as microvilosidades do intestino delgado (NRC, 2001) ou por serem reesterificados mais rapidamente dentro do enterócito facilitando sua remoção do citosol aumentando com isso a taxa de absorção (Wu et al., 1991).

Normalmente, o coeficiente de absorção intestinal de ácidos graxos varia de 80%, para ácidos graxos saturados, a 92%, para ácidos graxos insaturados, em dietas convencionais com baixo teor de gordura (2 a 3% na MS) (Balchart, 1993). Wu et al. (1991) encontraram valores de digestibilidade de 73,9% e 58,2% para sais de cálcio de ácido graxo e uma mistura de gordura animal/vegetal, respectivamente. De acordo com os autores, a maior digestibilidade dos sais de cálcio de ácidos graxos pode ser explicada pela maior relação ácidos graxos insaturados:saturados (0,88) comparada à mistura de gordura animal/vegetal (0,46).

A adição de sais de cálcio de AG de cadeia longa à dieta resultou em um aumento na digestibilidade aparente da gordura em trabalho realizado por Chouinard et al. (1998). Dentre as possíveis explicações para este resultado encontra-se o efeito de diluição da secreção endógena pela gordura da dieta e uma maior digestibilidade da gordura suplementar em relação à gordura da dieta basal (NRC, 2001). Wu et al. (1991) analisando diferentes fontes de gordura encontraram um comportamento quadrático onde houve um aumento na digestibilidade aparente da gordura quando a suplementação variou de 0 a 3% apresentando uma queda quando os níveis variaram de 3 a 6%.

Pantoja et al. (1996) utilizaram dietas variando o nível de fibra e grau de saturação das fontes de gordura empregadas com o objetivo de se determinar o efeito das dietas sobre a digestibilidade aparente dos AG. A digestibilidade aparente no intestino delgado foi maior para vacas alimentadas com dietas controle em relação às dietas com gordura (sebo, sebo hidrogenado e uma mistura de gordura animal/vegetal). A digestibilidade também foi afetada pelo grau de saturação, reduzindo quando sebo hidrogenado foi utilizado. O nível de fibra não apresentou efeito sobre a digestibilidade dos AG.

Romo et al. (2000) avaliando a digestibilidade intestinal em animais submetidos à infusão abomasal com ácidos *cis* e *trans* encontraram que a digestibilidade foi diretamente relacionada ao número de duplas ligações dentro dos isômeros e os isômeros *cis* C<sub>18:1</sub> foram levemente mais digestíveis do que isômeros *trans* C<sub>18:1</sub>.

Jenkins et al. (1996) avaliando a adição de óleo de soja à dieta de vacas em lactação não observaram efeito na concentração de C<sub>18:2</sub> no plasma indicando extensiva biohidrogenação de ácidos graxos insaturados pelos microrganismos do rúmen. A concentração de *trans*-C<sub>18:1</sub> foi 10 vezes maior no plasma de vacas suplementadas com óleo de soja do que em vacas recebendo dieta controle. A adição de óleo de soja a dieta reduziu a concentração plasmática de ácidos graxos com menos de 16 carbonos, exceto para C<sub>4:0</sub> e C<sub>8:0</sub>. Avila et al. (2000) encontraram um aumento na concentração de AGL no sangue de vacas recebendo dietas com gordura (sebo e óleo resíduo de restaurante) em relação à dieta controle.

Mesmo após uma intensa biohidrogenação ruminal o fornecimento de gordura pode ser interessante, já que os ruminantes possuem uma maior eficiência de absorção de ácidos graxos saturados comparado aos monogástricos (Palmquist & Jenkins, 1980). O pH da digesta que deixa o abomaso é muito baixo e permanece assim até a metade proximal do intestino delgado devido à limitada capacidade tamponante do suco pancreático, o qual possui baixos níveis de bicarbonato de sódio (Church, 1988). O baixo pH intestinal associado a maior concentração de ácido tauracólico e lisolecitina (Demeyer & Doreau, 1999), promovem uma melhor ação detergente polar dos sais biliares resultando numa maior eficiência de absorção.

Dentre as possibilidades existentes para que se alcance o desempenho esperado pelos animais, a manipulação da composição de ácidos graxos que chegam ao intestino delgado parece ser a forma mais apropriada para aumentar a digestibilidade de lipídeos na dieta de ruminantes (Palmquist, 1991).

## 2.2 Efeito dos lipídeos na digestão

Os lipídeos adicionados à dieta de ruminantes podem afetar a fermentação no rúmen causando redução na digestibilidade de outras fontes de energia. Segundo revisão realizada por Chilliard (1993), a redução na digestão é acompanhada pela redução na produção de metano, hidrogênio e ácidos graxos voláteis, incluindo uma menor relação acetato:propionato.

A concentração de ácidos graxos livres insaturados provavelmente determina maiores efeitos negativos na capacidade fermentativa do rúmen do que outras frações lipídicas (ácidos graxos livres saturados e triglicerídeos). Portanto, a suplementação com óleos vegetais, reconhecida fonte de ácidos graxos insaturados, seria um grande causador de distúrbios na fermentação ruminal. Entretanto quando essa fonte é fornecida na forma de sementes oleaginosas 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 & Wilks, 1991).

A concentração de ácidos graxos livres insaturados no rúmen é regulada pela quantidade e tipo de lipídeos na alimentação e também pela extensão da lipólise, biohidrogenação e formação de sais de carboxilato (Jenkins, 1993).

Em revisão realizada por Jenkins (1993), vários mecanismos têm sido propostos para explicar como os lipídeos interferem na fermentação ruminal. A teoria do revestimento e a teoria do efeito direto antimicrobiano são as mais aceitas, esta última causada provavelmente pela lise das células bacterianas (Donovan et al., 2000). Outras teorias envolvem uma modificação na população microbiana relacionada com a digestão de celulose e redução na disponibilidade de cálcio para os microrganismos, sendo recomendado o fornecimento de cálcio adicional quando se utiliza gordura na dieta (NRC, 2001).

A infusão de óleo de linhaça no rúmen de carneiros diminuiu a digestão de proteína no rúmen e foi acompanhada pela diminuição da concentração de amônia e aumento no fluxo de nitrogênio para o duodeno (Ikwuegbu & Sutton, 1982). Chouinard et al. (1998) avaliando a adição de sais de cálcio de óleo de canola, linhaça e soja na dieta de vacas encontraram digestibilidades aparentes no trato total da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e FDN maiores para dietas suplementadas com os sais de cálcio do que para dieta controle.

### **2.3 Produção e composição do leite**

Vacas alimentadas com dietas suplementadas com gordura podem aumentar a produção de leite uma vez que aumentam a ingestão de energia ou melhoram a eficiência de utilização da energia (Klusmeyer & Clark, 1991).

A quantidade de gordura dietética transferida diretamente para a gordura do leite é influenciada principalmente por três fatores: 1) biohidrogenação ruminal, 2) absorção (digestibilidade), e 3) deposição de tecido adiposo (Palmquist et al., 1993).

A redução na concentração de proteína no leite com a utilização de gordura na dieta é por vezes citada na literatura (Romo et al., 2000; Delbecchi et al., 2000; Wu et al., 1994; Wu et al., 1993) e algumas hipóteses são discutidas procurando explicar qual a razão deste decréscimo. A explicação mais difundida envolve o aumento no fornecimento de energia e o suprimento de aminoácidos, onde este suprimento não consegue atender a demanda para síntese protéica na mesma extensão em que aumenta o consumo de energia pelos animais (Cant et al., 1993).

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 uma melhor utilização de recursos disponíveis.

De acordo com dados obtidos por Chouinard et al. (1998) a produção de leite, teor de proteína e lactose não apresentaram diferença entre as vacas recebendo dietas suplementadas com os sais de cálcio de óleo de canola, linhaça e soja em relação as vacas recebendo a dieta controle, havendo, no entanto, uma redução na gordura do leite quando os sais de cálcio de ácidos graxos insaturados foram adicionados a dieta.

Hagemester et al. (1991) encontraram um declínio na produção de leite e ingestão de MS com a infusão abomasal de óleo de linhaça, no entanto o conteúdo de proteína e gordura do leite não foi afetado.

A suplementação com óleo de canola e óleo de linhaça na dieta fornecendo uma quantidade de 500 a 600 g/d de ácidos graxos, principalmente ácido oléico (C<sub>18:1</sub>) e ácido linolênico (C<sub>18:3</sub>), para vacas lactantes, não afetou a produção de leite, gordura, proteína e lactose, assim como as porcentagens de lactose e gordura do leite, havendo um decréscimo na porcentagem de proteína (Focant et al, 1998).

Kelly et al. (1998) avaliando a adição de óleos de amendoim, girassol e linhaça à dieta, não encontraram diferenças na produção de leite e gordura. Entretanto, a suplementação com óleo de girassol proporcionou uma maior produção de proteína no leite.

Avila et al., (2000) não encontraram efeito sobre a produção de leite de vacas suplementadas com sebo e óleo resíduo de restaurante. As porcentagens de proteína, gordura e lactose também não apresentaram diferenças com a suplementação ou tipo de gordura utilizada.

A adição de óleo de linhaça e óleo de soja em níveis crescentes (0,5; 1,0; 2,0 e 3,0%) não afetou a ingestão de matéria seca, produção de leite, produção e teor de proteína no leite. Entretanto, o teor de gordura no leite foi reduzido quando se utilizou óleo de soja nos níveis 2 e 4% (Dhiman et al., 2000). Resultados semelhantes foram encontrados por All et al. (1998) para teor e produção de proteína e teor de gordura utilizando semente de linhaça na dieta.

## 2.4 Perfil da gordura do leite

Com o objetivo de se agregar valor ao leite, tem-se intensificado pesquisas na área de manipulação não apenas na composição em termos de gordura e proteína, mas também quanto ao perfil de ácidos graxos da gordura do leite (Lichtenstein et al., 1997).

O consumo de produtos animais em grande parte está associado a uma alta ingestão de gordura saturada, conferindo a tais produtos uma imagem negativa sob o ponto de vista de saúde humana, uma vez que o consumo de gordura saturada está possivelmente ligado a um aumento na incidência de doenças cardiovasculares (Tymchuk et al., 1998; Lichtenstein et al., 1997).

A gordura do leite contém normalmente alto nível de gordura saturada, e este perfil tende a manter uma independência em relação à gordura suplementar em consequência das transformações ocorridas no rúmen.

Vários autores desenvolveram ensaios utilizando vacas em lactação submetidas a dietas com diversas fontes de gordura, diferindo em sua composição de AG, e artifícios que provocassem uma alteração no metabolismo do rúmen procurando avaliar o efeito sobre a composição de AG da gordura do leite.

Um dos objetivos é o aumento na concentração de certos componentes no leite, como AG poliinsaturados da série  $\omega$ -3 (ácido  $\alpha$ -linolênico (C<sub>18:3</sub>  $\omega$ -3), ácido eicosapentaenóico (C<sub>20:5</sub>  $\omega$ -3) e docosahexaenóico (C<sub>22:6</sub>  $\omega$ -3)) e o ácido linoléico conjugado (CLA).

### 2.4.1 Ácidos graxos $\omega$ -3

Os AG da série  $\omega$ -3 são responsáveis, segundo Kinsella et al. (1990), pela redução na incidência de doenças cardiovasculares, prevenção da aterosclerose e trombose, resultante da modificação do metabolismo dos lipídeos e lipoproteínas no sangue.

Hagemeister et al. (1991) avaliaram dietas com inclusão de semente de linhaça e observaram um declínio na concentração de ácido palmítico ( $C_{16}$ ) e um pronunciado aumento de ácido linolênico ( $C_{18:3}$ ) e ácido linoléico ( $C_{18:2}$ ) na gordura do leite. A suplementação com sementes de linhaça na dieta causou pouco ou nenhum aumento no total de ácidos graxos  $\omega$ -3, havendo um aumento de 11-18 % com infusão de 500g/d de semente de linhaça e 9-11% com infusão de 250g/d de óleo de linhaça. Cerca de 1% do ácido linolênico presente na semente de linhaça da dieta foi secretada no leite, sendo que 49 ou 56% deste ácido graxo foi transferido para o leite quando realizou-se a infusão de 500 ou 250 g de óleo de linhaça, respectivamente.

A adição de sais de cálcio de ácidos graxos a dieta aumentou a proporção de  $C_{18:0}$ , *cis*-9  $C_{18:1}$  e *trans*-11  $C_{18:1}$  na gordura do leite, mas teve apenas um pequeno efeito na proporção de  $C_{18:2}$  e  $C_{18:3}$  (Chouinard et al., 1998). O autor encontrou ainda que a proporção de *trans*-11  $C_{18:1}$  foi maior no leite de vacas alimentadas com sais de cálcio de óleo de soja, sendo que vacas suplementadas com sais de cálcio de óleo de linhaça apresentaram uma concentração intermediária seguido pelas vacas suplementadas com sais de cálcio de óleo de canola. O baixo conteúdo dos AG  $C_{18:2}$  e  $C_{18:3}$  provavelmente se deve a uma dissociação dos sais de cálcio no rúmen, possibilitando assim a ocorrência da biodrogenação e maior acúmulo de *trans*-11  $C_{18:1}$  e CLA (Chouinard et al., 2001).

De acordo com Pires et al. (1997), a adição de caroço de algodão a dieta proporcionou menores valores de  $C_{18:2}$  no leite devido a sua menor ingestão. Apesar da ingestão de  $C_{18:2}$  ter sido similar para caroço de algodão tostado e caroço de algodão moído, a adição de caroço de algodão tostado aumentou  $C_{18:2}$  no leite devido a menor biohidrogenação no rúmen.

Segundo Wu & Palmquist (1991), o acúmulo de *trans*- $C_{18:1}$  e  $C_{18:0}$  após incubação in vitro foi maior para dietas com uma mistura de gordura animal e vegetal em relação as dietas com sais de cálcio, sendo que uma grande proporção de  $C_{18:2}$  foi convertida a *trans*- $C_{18:1}$  em dietas contendo uma mistura



de gordura animal e vegetal. Em outro estudo realizado por Wu et al. (1991), utilizando animais canulados, foi observado uma grande diferença na extensão de biohidrogenação entre dietas com sais de cálcio e dietas contendo a mistura entre gordura animal e vegetal. A biohidrogenação de  $C_{18:1}$ ,  $C_{18:2}$  e  $C_{18:3}$  foi menor para os sais de cálcio em relação a mistura de gordura animal e vegetal.

Kelly et al. (1998) citam uma maior concentração de ácidos graxos  $C_{18:1}$  no leite, com adição de óleo de girassol comparada a adição de óleo de amendoim ou linhaça à dieta. Apesar dos níveis de ácido linolênico ( $C_{18:3}$ ) no leite terem sido baixos, a suplementação com óleo de linhaça dobrou a sua concentração assim como aumentou os níveis de outros AG no leite.

Avila et al. (2000) procurando comparar duas fontes de gordura, utilizando sebo e óleo resíduo de restaurante encontraram que a composição de AG na gordura do leite foi alterada pela inclusão da gordura, mas diferiu pouco entre as fontes utilizadas. Essa alteração se refletiu no aumento de AG de cadeia longa, principalmente  $C_{18:0}$  e *cis*  $C_{18:1}$  e na redução de  $C_{18:2}$ . A suplementação com gordura não afetou a concentração de *trans*- $11C_{18:1}$ , no entanto a comparação entre as fontes mostrou um aumento quando utilizou-se óleo resíduo de restaurante. Drackey et al. (2001) encontraram resultados semelhantes para aumento de  $C_{18:0}$  e *cis*  $C_{18:1}$  na gordura do leite com adição de uma fonte comercial de gordura saturada. Os autores citam que o aumento obtido na concentração de *cis*  $C_{18:1}$  pode ser decorrente da incorporação direta da gordura suplementar ou da desaturação do  $C_{18:0}$ .

A inclusão de óleo de peixe a dieta também é bastante discutida na literatura como uma alternativa para se modificar o perfil de AG da gordura do leite. Donovan et al. (2000) verificaram um aumento linear no total de AG  $\omega$ -3 ( $C_{18:3}$   $\omega$ -3,  $C_{20:5}$   $\omega$ -3 e  $C_{22:6}$   $\omega$ -3) quando o óleo de peixe foi adicionado de 1 a 3% da dieta. Entretanto esse aumento se deve ao acréscimo nos AG  $C_{20:5}$   $\omega$ -3 e  $C_{22:6}$   $\omega$ -3, uma vez que a concentração de  $C_{18:3}$   $\omega$ -3 não foi alterada.

Um aspecto a ser considerado quando se tem uma alta concentração de AG insaturados é a necessidade de certos cuidados com o produto final, o

leite. Esta maior concentração de AG insaturado torna o produto mais susceptível a oxidação sendo recomendada uma suplementação do animal com um antioxidante, como a vitamina E, para evitar sua rápida deterioração (Donovan et al., 2000).

#### **2.4.2 Ácido linoléico conjugado e ácidos graxos *trans***

O ácido linoléico conjugado (CLA) é um termo utilizado para designar uma mistura de isômeros geométricos e posicionais do ácido linoléico (C<sub>18:2</sub>), que contêm duas duplas ligações conjugadas (Donovan et al., 2000).

O CLA e o ácido *trans*-11 C<sub>18:1</sub> são produtos da incompleta biohidrogenação ruminal (Church, 1988; Chouinard et al., 1998). O aumento na concentração de C<sub>18:1</sub> pode ser parcialmente atribuído ao escape de ácidos graxos insaturados da biohidrogenação do rúmen, assim como à ação de enzimas desaturase na glândula mamária, que podem converter C<sub>18:0</sub> à C<sub>18:1</sub> (Tymchuk et al., 1998).

O CLA é um anticarcinogênico de ocorrência natural, encontrado na gordura do leite e gordura corporal de ruminantes. Os produtos derivados do leite são as maiores fontes de CLA na dieta de humanos, e o enriquecimento do leite com CLA pode ser bastante interessante pelos benefícios para saúde dos consumidores (De Luca & Jenkins, 2000). O perfil destes ácidos graxos no leite, pode ser alterado por modificações no padrão de fermentação ruminal, espécies de bactérias ruminais (Kalscheuret et al., 1997a) e suplementação de CLA e *trans*-11 C<sub>18:1</sub> na dieta (Chouinard et al., 1999; Romero et al., 2000).

De acordo com Griinari et al. (2000), apesar do CLA ser um intermediário da biohidrogenação ruminal do ácido linoléico, a maior fonte desse AG é a síntese endógena, o que envolve a ação da enzima  $\Delta$ -9 desaturase sobre o *trans* C<sub>18:1</sub>, outro intermediário da biohidrogenação ruminal. Isto é comprovado quando se verifica aumento na concentração de CLA na gordura do leite de vacas mantidas em pastagens ou suplementadas com óleo

de peixe, fontes reconhecidamente pobres em ácido linoléico. Avaliando a infusão abomasal de uma mistura 50:50 de *trans*-11 C<sub>18:1</sub> e *trans*-12 C<sub>18:1</sub>, o autor mencionado encontrou um acréscimo de 31% no AG *cis*-9, *trans*-11 C<sub>18:2</sub> (CLA), havendo também um aumento na concentração do *cis*-9, *trans*-10 C<sub>18:1</sub>, porém em menor proporção. A relação entre a infusão abomasal com *trans*-11 C<sub>18:1</sub> e o conteúdo de CLA na gordura do leite evidenciam sua formação a partir do *trans*-11 C<sub>18:1</sub> via enzima  $\Delta$ -9 desaturase, o que segundo o autor é uma consideração importante na elaboração de estratégias nutricionais que busquem o aumento do CLA no leite.

Procurando reafirmar sua teoria, Griinari et al. (2000) realizaram também infusão abomasal com óleo estercúlico, um inibidor da ação da enzima  $\Delta$ -9 desaturase. Eles encontraram uma redução na concentração de CLA (45%) ao mesmo tempo em que aumentou *trans*-11 C<sub>18:1</sub> na gordura do leite. Houve também um aumento nas relações de alguns produtos da ação da  $\Delta$ -9 desaturase, como os ácidos 14:0:14:1, 16:0:16:1, 18:0:*cis* 9 18:1.

O *cis*-9, *trans*-11 C<sub>18:2</sub> é o isômero do CLA relacionado à redução na incidência de tumores em ensaios conduzidos com ratos (Bauman & Griinari, 1999). Em outro estudo com ratos, Ip et al., (1999) mostraram que o fornecimento de dietas contendo CLA durante o período de desenvolvimento da glândula mamária regula a maturação morfológica do epitélio mamário reduzindo o risco de câncer em animais.

Além de sua propriedade anticarcinogênica, o *cis*-9, *trans*-11 C<sub>18:2</sub> também está associado a uma função antiaterogênica, combate a diabetes e estímulo ao sistema imune (Baumgard et al., 1999; McGuire & McGuire, 1999). Estudos ainda mostram que o *cis*-9, *trans*-11 C<sub>18:2</sub> pode ser efetivamente um inibidor de crescimento de tumores em concentrações inferiores a 1% da dieta (McGuire & McGuire, 1999).

Chouinard et al. (1999) avaliando o efeito do CLA para vacas leiteiras, encontraram uma redução na produção de gordura do leite superior a 50%, sendo esta redução mais significativa para ácidos graxos de cadeia curta ou

média, indicando uma interferência na síntese *de novo* pelas células epiteliais da glândula mamária.

A redução da gordura no leite normalmente esta associada com a menor produção de AG de cadeia curta e média ( $C_6$  a  $C_{16}$ ) (Avila et al., 2000; Drackley et al., 2001; Piperova et al., 2000; Solomon et al., 2000), e, uma vez que a síntese desses AG ocorre na glândula mamária, esta queda possivelmente se deve ao decréscimo da atividade de enzimas envolvidadas neste processo, como acetil CoA carboxilase e ácido graxo sintase (Piperova, 2000).

A concentração de ácidos graxos *trans*  $C_{18:1}$  é por vezes relacionada com uma redução na produção de gordura no leite. Vacas consumindo dietas suplementadas com gorduras contendo *trans*- $C_{18:1}$  ou dietas que estimulem a produção de grandes quantidades de *trans*- $C_{18:1}$  no rúmen, podem causar uma queda na gordura do leite de acordo com Wonsil et al. (1994).

O perfil de ácidos graxos na gordura do leite de vacas suplementadas com óleo de canola e óleo de linhaça apresentou um aumento na concentração de *trans*-11- $C_{18:1}$ , havendo uma diminuição no conteúdo de gordura do leite (Focant et al., 1998).

A utilização de suplementação lipídica com altos níveis de ácidos graxos poliinsaturados, mostrou-se bastante eficaz no aumento da concentração de CLA e outros ácidos graxos insaturados na gordura do leite. As fontes vegetais como óleo de soja e óleo de linhaça, ricas em  $C_{18:2}$  e  $C_{18:3}$ , são particularmente efetivas (Chouinard et al., 2001).

Kalscheur et al., (1997a) avaliando o efeito de fontes de gordura no fluxo de *trans*- $C_{18:1}$  para o duodeno observaram que houve uma incompleta biohidrogenação, representada pelo aumento do fluxo de *trans*- $C_{18:1}$  para o duodeno, em vacas alimentadas com dietas suplementadas com óleo de girassol com alto conteúdo de ácido oléico e linoléico. No entanto, apesar do aumento de *trans*- $C_{18:1}$  ser maior no leite de vacas com reduzido teor de gordura, o autor acredita não haver uma associação constante entre a

quantidade total de *trans*-C<sub>18:1</sub> no leite e uma diminuição no teor de gordura do leite. Solomon et al. (2000) utilizando como fonte de gordura insaturada a soja extrusada, também não encontraram uma relação entre concentração de *trans*-C<sub>18:1</sub> e teor de gordura no leite.

Piperova et al. (2000) analisando o CLA da gordura do leite de animais recebendo uma dieta com adição de óleo de soja, encontraram uma redução na concentração de *cis*-9, *trans*-11 C<sub>18:2</sub> e um aumento nos isômeros *trans*-10, *cis*-12 C<sub>18:2</sub> e *trans*-7, *cis*-9 C<sub>18:2</sub>. O isômero *trans*-10, *cis*-12 C<sub>18:2</sub> é provavelmente produzido no rúmen pela ação de uma isomerase específica e então hidrogenado a *trans*-10 C<sub>18:1</sub>. Relacionando o decréscimo no conteúdo do *cis*-9, *trans*-11 C<sub>18:2</sub> com a redução na gordura do leite (43%) na dieta com óleo de soja, constatou-se que este isômero do CLA não foi um dos responsáveis por esta queda.

Baumgard et al. (1999) submetendo vacas em lactação à infusão abomasal com *cis*-9, *trans*-11 C<sub>18:2</sub> e *trans*-10, *cis*-12 C<sub>18:2</sub> encontraram uma redução na gordura do leite apenas no caso da infusão com *trans*-10, *cis*-12 C<sub>18:2</sub>.

A redução na produção de gordura no leite mais provavelmente pode ser explicada pela hipótese de haver papéis específicos para diferentes isômeros de ácidos graxos *trans*, onde esta redução estaria mais associada aos isômeros *cis*-8, *trans*-10 C<sub>18:2</sub> (Chouinard et al., 1999), *trans*-10, *cis*-12 C<sub>18:2</sub> (Griinari et al., 1998; Griinari et al., 1999; Piperova et al., 2000) e *trans*-7, *cis*-9 C<sub>18:2</sub> (Piperova et al., 2000).

## 2.5 Relação forragem:concentrado

O aumento na ingestão de grãos na dieta (amido fermentável), aumenta a produção de leite e o seu teor de proteína. Em casos de alta ingestão de concentrado (acima de 50% da MS), o aumento na ingestão de amido pode causar uma queda na gordura do leite, ocasionando uma mudança na sua

composição de ácidos graxos. Na maioria dos casos ocorre uma queda na concentração de ácidos graxos de cadeia curta e C<sub>18</sub> é aumentada dependendo da fonte do cereal e do conteúdo de gordura (Palmquist et al., 1993).

Chilliard et al. (2001) realizaram uma revisão procurando avaliar o efeito da silagem de milho versus silagem de gramíneas sobre composição de AG da gordura do leite. Os autores não encontraram diferenças na concentração de AG poliinsaturados, citando ainda que a porcentagem de ácido linoléico é menor que 2% para silagem de gramíneas e está entre 1,8 e 2,8% para silagem de milho.

O fornecimento de dietas com baixo conteúdo de forragem diminuiu a lipólise de triacilglicerídeos e a biohidrogenação de ácidos graxos de cadeia longa no rúmen (Harrfoot & Hazlewood, 1988). Lathan et al. (1972) mostraram que a taxa de lipólise e biohidrogenação são reduzidas em dietas com alta inclusão de concentrado e baixo nível de fibra, resultando em um aumento de ácidos graxos insaturados na gordura do leite.

A extensão da biohidrogenação é dependente do ambiente ruminal, sendo que um baixo pH pode afetar a etapa final da biohidrogenação, onde o *trans*-C<sub>18:1</sub> é convertido a ácido esteárico. Kalscheur et al. (1997b) mostraram que o fluxo de ácidos graxos *trans*-C<sub>18:1</sub> para o duodeno aumentou em vacas alimentadas com dietas de baixo nível de fibra sem tamponante. Entretanto, quando tamponantes foram adicionados, o fluxo de ácidos graxos *trans*-C<sub>18:1</sub> reduziu, igualando-se ao fluxo das vacas alimentadas com dietas de alto nível de fibra. A adição de tamponantes aumentou o pH ruminal e, juntamente com mudanças no padrão de ácidos graxos voláteis do rúmen, alterou a taxa de crescimento e espécies de bactérias ruminais.

Griinari et al. (1998) compararam dietas com alto e baixo teor de fibra com e sem a suplementação de uma fonte de gordura saturada e insaturada. Em dietas com baixo teor de fibra com adição de gordura insaturada, houve uma redução na porcentagem e produção de gordura no leite de 30 e 35% respectivamente, comparada com a dieta de alto teor de fibra e gordura

saturada. Murphy et al. (2000) observaram um pequeno efeito da relação forragem:concentrado, quando utilizaram dietas contendo 30% de forragem, refletido no aumento da produção de proteína do leite, mas a produção de leite e gordura não foram afetados.

Avaliando o efeito de valores de pH na lipólise e biohidrogenação *in vitro*, Van Nevel e Demeyer (1996a) encontraram que a pH 6,0 a atividade lipolítica foi significativamente inibida e a intensidade em que foi inibida aumentou quando maiores quantidades de óleo de soja foram fornecidas. Quando o pH caiu para 5,5, houve uma inibição em torno de 50%, no entanto, este valor de pH é conseguido apenas em dietas com maiores quantidades de concentrado. Os autores ainda relatam que houve uma maior inibição na atividade lipolítica, mostrando que esta foi mais sensível a mudanças de pH do que a biohidrogenação. Os autores citam que não é possível se determinar em que extensão o efeito inibitório do pH sobre a lipólise se deu pela inibição do crescimento e metabolismo das bactérias lipolíticas e/ou interferência na atividade da lipase.

O fornecimento de dietas com baixo conteúdo de forragem diminuiu a lipólise de triacilglicerídeos e a biohidrogenação de ácidos graxos de cadeia longa no rúmen (Harrfoot e Hazlewood, 1988). Quando se altera a dieta diminuindo o conteúdo de forragem, há uma diminuição no número de bactérias lipolíticas no rúmen, sendo observados os mesmos resultados para estudos *in vitro* (Latham et al., 1972).

A manutenção de baixos valores de pH no rúmen através da utilização de dietas com alto concentrado, pode se constituir em uma estratégia para a proteção de fontes suplementares de lipídeos insaturados (óleos) contra a biohidrogenação, possibilitando que mais ácidos graxos insaturados cheguem ao intestino, onde poderão então ser absorvidos e incorporados à gordura do leite (Van Nevel e Demeyer, 1996b).

Com base na revisão apresentada, a suplementação de gordura em dietas com alto teor de concentrado, leva a um aumento na concentração de

ácidos graxos insaturados no leite, uma vez que estudos comprovam que o alto conteúdo de grão na dieta pode alterar o ambiente ruminal, resultando em menores taxas de lipólise e biohidrogenação.



### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Localização, animais e instalações experimentais**

O experimento foi conduzido nas instalações de Pesquisa em Nutrição Animal do Departamento de Produção Animal, da ESALQ/USP.

Foram utilizadas cinco vacas da raça Holandesa Preta e Branca, multíparas, com média de 101 dias em lactação, produzindo cerca de 22,6 Kg de leite/d, apresentando um consumo em torno de 18 Kg de MS. Os animais foram submetidos à intervenção cirúrgica para implantação de cânulas no rúmen e no duodeno proximal.

As instalações consistiam em um galpão coberto, com ventiladores e baias individuais (2,5 x 1,10 m) tipo “tie stall”, providas de comedouro individual, bebedouro automático a cada duas baias e piso de borracha.

#### **3. 2 Período experimental**

O experimento teve uma duração de 105 dias, sendo composto de 5 períodos de 21 dias. Os primeiros 17 dias de cada período foram utilizados para adaptação dos animais às dietas experimentais e os 4 dias seguintes destinados à coleta de amostras do alimento oferecido e sobras, fezes, conteúdo duodenal, fluído ruminal, leite e sangue.

### 3.3 Tratamentos

Os tratamentos consistiram de dietas contendo silagem de milho como volumoso exclusivo avaliando dois níveis de fibra com e sem suplementação com fontes de gordura. As fontes de gordura utilizadas foram semente de linhaça e óleo de soja. As dietas experimentais foram formuladas para serem isoprotéicas, procurando manter uma relação forragem:concentrado de 60:40 e 40:60 para dietas com alto e baixo nível de fibra, respectivamente. A cada dez dias foram coletadas amostras da silagem de milho para determinação do teor de MS (55 - 60° C) fazendo ajustes, quando necessários, para que a relação forragem:concentrado fosse mantida. Os tratamentos foram: 1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, 2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, 3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, 4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e 5 - 60% de concentrado com óleo de soja. Nenhum dos tratamentos continha monensina e bicarbonato de sódio para evitar possíveis alterações na fermentação ruminal decorrente dos efeitos desses ingredientes.

A semente de linhaça utilizada foi adquirida da Empresa Rações Total, localizada em Três Corações, MG. A semente de linhaça era previamente moída em um moinho da marca Willye com peneira de 5 mm para posteriormente ser misturada aos outros ingredientes do concentrado. O concentrado era misturado a cada dez dias num misturador vertical da marca Lucato com capacidade para 150 kg.

O alimento volumoso (silagem de milho) e o concentrado eram pesados separadamente e misturados no cocho no momento do fornecimento. A alimentação dos animais era realizada 2 vezes ao dia, logo após a ordenha (em torno de 7 e 19 horas). Para garantir consumo "ad libitum", trabalhou-se com uma sobra ao redor de 5% do oferecido.

A composição das dietas experimentais encontra-se no Quadro 2.

Ingredientes	Tratamentos <sup>1</sup> (% de MS)				
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5
Silagem de Milho	60,09	39,96	60,09	40,06	39,96
Farelo de Soja	22,07	21,11	20,42	19,51	21,58
Milho	10,33	31,43	5,40	26,33	28,61
Polpa cítrica	4,69	4,69	4,69	4,70	4,69
Semente de Linhaça	-	-	6,57	6,58	-
Óleo de Soja	-	-	-	-	2,35
Sal Mineral	2,82	2,81	2,82	2,82	2,81

<sup>1</sup> T1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, T2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, T3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, T4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e T5 - 60% de concentrado com óleo de soja.

## Quadro 2 - Composição das dietas experimentais.

O marcador utilizado para determinação de indigestibilidade dos nutrientes foi a fibra do volumoso (silagem de milho) marcada com o Cromo Mordente. A fibra marcada foi colocada no rúmen via cânula duas vezes ao dia (50 g a cada 12 horas, totalizando 100 g/dia/animal). O marcador era colocado no rúmen dos animais durante 12 dias, possuindo uma concentração média de 7 % de cromo, sendo a quantidade colocada diariamente no rúmen dos animais em torno de 7 g de cromo.

### 3.4 Coleta de dados

#### 3.4.1 Coleta de oferecido e sobras: determinação do CMS e consumo de nutrientes

O dados para determinação do consumo de matéria seca e nutrientes, foram obtidos através dos registros do alimento oferecido e sobras e da coleta de amostras da dieta e sobras realizadas durante os quatro últimos dias de

cada período experimental. Ao serem coletadas, as amostras foram congeladas a  $-10^{\circ}\text{C}$  e ao final de cada período foram descongeladas, compostas por animal e foi retirada uma alíquota de aproximadamente 600 gramas. As alíquotas foram secas em estufas de ventilação forçada ( $55$  a  $60^{\circ}\text{C}$ ) por 72 horas para determinação da matéria seca de acordo com a AOAC (1990) e moídas em um moinho da marca Willye com peneiras de 1mm.

#### **3.4.2 Coleta de conteúdo duodenal: digestibilidade de nutrientes e fluxo de proteína microbiana**

Foram coletadas amostras de 250 ml de líquido duodenal a cada 4 horas, sempre atrasando uma hora em relação ao dia anterior durante os quatro dias de coleta procurando desta forma representar as 24 horas do dia. No momento da coleta, havia o cuidado de se desprezar sempre o primeiro jato de conteúdo duodenal, evitando que amostras não representativas fossem coletadas. As amostras foram mantidas sob refrigeração ( $-10^{\circ}\text{C}$ ) para composição de uma amostra composta por período por animal. Ao final de cada período as amostras compostas foram descongeladas secas em estufa com ventilação forçada a uma temperatura de  $55$  a  $60^{\circ}\text{C}$  e moídas em peneira de 1mm.

Durante o último dia de coleta, uma segunda amostra da digesta duodenal equivalente a 2 litros foi coletada para determinação da composição microbiana e armazenada a  $-10^{\circ}\text{C}$ .

#### **3.4.3 Coleta de fezes: determinação da digestibilidade aparente no trato digestivo total**

As coletas de fezes da porção final do reto, foram feitas a cada 8 horas durante os 4 dias de coleta de cada período, sendo o horário de coleta

adiantado 2 horas/dia. As amostras foram mantidas sob refrigeração (-10° C) para que uma amostra composta fosse retirada por animal por período.

As amostras foram processadas ao término de cada período experimental, quando então o material coletado era descongelado, homogeneizado e alíquotas de 600 g compostas por animal foram retiradas e secas em estufa com ventilação forçada a uma temperatura de 55 a 60 ° C e moídas em peneira de 1mm.

#### **3.4.4 Análises laboratoriais**

As amostras compostas do alimento oferecido, sobras, duodeno e fezes foram analisadas para matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) de acordo com a AOAC (1990). A análise de EE das fezes foi realizada pela extração com éter de petróleo adicionado de 10% de ácido acético, para liberar os ácidos graxos (Mattos & Palmquist, 1974). As determinações de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) foram realizadas utilizando-se o aparelho ANKON<sup>200</sup> da Ankom Technology Corporation de acordo com o método de Van Soest (1991). As concentrações de cromo das amostras de duodeno e fezes foram determinadas pelo método de Silva (1981) e analisadas pelo espectrofotômetro de absorção atômica PERKIN ELMER Analyst 100.

As amostras de duodeno destinadas à análise de purina foram centrifugadas a 2000 x g por 15 minutos para remoção de protozoários e partículas de alimento. O sobrenadante foi então centrifugado a 18000 x g por 15 minutos para separação das bactérias. O “pelet” de bactéria foi congelado e liofilizado para determinação de PB, MO e purinas segundo o método de Zinn & Owens (1986).

A fibra marcada foi submetida à análise de cromo de acordo com o método de Silva (1981) para determinação exata do teor de cromo ingerido, para se obter a determinação da indigestibilidade dos nutrientes no rúmen e

trato digestivo total, através do cálculo baseado nas relações entre os nutrientes e o cromo da dieta, digesta do duodeno e das fezes.

A digestibilidade aparente (D) no rúmen e trato digestivo total da MS e demais nutrientes da dieta foi calculada utilizando-se os valores de cromo recuperado e oferecido a cada animal pela fórmula:

$$D(\%) = 100 - \left[ \frac{100 \times \% \text{ cromo oferecido}}{\% \text{ cromo recuperado}} \times \frac{\% \text{ do nutriente nas fezes}}{\% \text{ do nutriente no alimento}} \right]$$

### **3.5 Controle e coleta de leite: produção e composição**

As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia (6:30 e 18:00 horas), sendo realizado o controle leiteiro através de pesagem individual do leite dos animais (Kg/d) nos quatro últimos dias de cada período experimental. Amostras de leite foram coletadas a cada ordenha e preservadas em 2-bromo-2-nitropropano-1-3-diol sob refrigeração (6° C), onde ao final do dia as amostras eram compostas por animal para análise de proteína, gordura e lactose, por infravermelho utilizando um equipamento do tipo BENTLEY 2000. As análises da composição do leite foram realizadas no Laboratório de Fisiologia da Lactação - ESALQ/USP.

### **3.6 Coleta de fluido ruminal: determinação de pH, N-NH<sub>3</sub> e AGV**

Amostras do fluido ruminal foram coletadas durante o último dia de coleta de cada período. As coletas se iniciaram antes do fornecimento da dieta da manhã e se repetiam a cada 2 horas durante 12 horas, totalizando assim 6 coletas.

As amostras de conteúdo ruminal foram coletadas de quatro pontos distintos do rúmen e filtradas em quatro camadas de tecido de algodão,

obtendo-se 200 ml de fluído ruminal. A leitura de pH no fluído ruminal era imediatamente realizada após a coleta em medidor de pH digital da Digimed, modelo DM-20.

Duas alíquotas foram acidificadas com 1,25 ml de ácido clorídrico e congeladas a  $-10^{\circ}$  C para análise de concentração de nitrogênio na forma de amônia (N-NH<sub>3</sub>) e determinação da concentração de ácidos graxos voláteis (AGV). Para determinação do N-NH<sub>3</sub>, as amostras foram descongeladas e centrifugadas a 11.000 g a  $4^{\circ}$  C, durante 20 minutos e uma alíquota de 40µl foi transferida para um tubo de vidro para posterior análise de acordo com o método colorimétrico descrito por Chaney & Marbach (1962) e adaptado para ser usado em placas de microtítulo e posterior leitura em aparelho do tipo Elisa (absorbância de 550 nanômetros). Para determinação da concentração de AGV, as amostras foram descongeladas e centrifugadas conforme descrito acima e analisadas segundo Palmquist & Conrad (1971) utilizando cromatografia líquida-gasosa (CLG) Hewlett Packard 5890, Series II (Hewlett-Packard Company, Avondale, PA) equipado com HP Integrador (Hewlett-Packard Company, Avondale, PA). Como padrão interno utilizou-se o ácido 2-etilbutírico, adicionando-se 100 µl do padrão para 800 µl da mistura fluido ruminal e 200 µl de ácido metafosfórico nos tubos HP 5890 para leitura em cromatógrafo. O nitrogênio foi utilizado como gás de arraste e a temperatura do injetor, detector e coluna foram 150, 190, e  $115^{\circ}$  C, respectivamente.

### **3.7 Coleta de sangue: determinação de AGL**

As amostras de sangue foram coletadas da veia ou artéria coccígea no quarto dia de cada período de coleta, cerca de 3 horas após o fornecimento da dieta para os animais, em tubos de ensaio contendo oxalato de potássio como anticoagulante e fluoreto de sódio com antiglicolítico, sendo as amostras

centrifugadas a 1500 x g por 15 minutos a 4 °C e congeladas para posterior análise de ácidos graxos não esterificados.

A concentração plasmática de AGL foi determinada em triplicata, através da utilização de um kit comercial (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Alemanha) e a leitura foi realizada em um aparelho tipo Elisa.

O padrão de 1mEq/L de ácido oléico foi diluído com solução salina de maneira a obter concentrações de 0,125; 0,5; 0,75 e 1,0 mEq/L. Cada célula da placa Elisa no momento da leitura continha 10µl do branco, padrão ou amostra do plasma, 40µl de diluente (solução salina), 50 µl do reagente A e 100µl do reagente B.

### 3.8 Análise estatística

O delineamento estatístico utilizado foi o Quadrado Latino 5 x 5 (cinco períodos x cinco animais), analisando-se os dados de consumo, produção e composição do leite e ácidos graxos livres pelo procedimento GLM (Modelo Linear Geral) do programa SAS (1991) utilizando o seguinte modelo matemático :

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + P_j + C_k + \varepsilon_{ijkl}$$

Onde:

$\mu$  = Média geral

$T_i$  = Efeito da dieta

$P_j$  = Efeito do período

$C_k$  = Efeito do animal

$\varepsilon_{ijkl}$  = Erro residual

O quadro de análise de variância encontra-se no Quadro 3.



Causas de Variação	Graus de Liberdade
Animal	4
Período	4
Tratamentos	4
Resíduo	12
TOTAL	24

Quadro 3 - Quadro esquemático de análise de variância para consumo, produção e composição do leite e AGL.

O quadro de análise de variância para os parâmetros ruminais pode ser observado no Quadro 4.

Causas de Variação	Graus de Liberdade
Animal	4
Período	4
Tratamento	4
Resíduo A	12
Parcelas	24
Tempo	2
Tempo x Tratamento	8
Resíduo B	40
Subparcelas	74

Quadro 4 - Quadro esquemático de análise de variância para parâmetros ruminais

Os parâmetros ruminais foram analisados estatisticamente como parcelas subdivididas no tempo pelo PROC MIXED, que define as variáveis fixas e aleatórias para execução da análise. Os efeitos de tratamento, animal e período foram testados com relação às parcelas. A interação horário de coleta (tempo) x tratamento e o tempo foram testados com relação às sub parcelas.

Foi considerado 5% ( $P < 0,05$ ) como nível de significância e até 20% como tendência ( $P < 0,20$ ) para probabilidade do teste F na análise de variância. Para as variáveis que obtiveram respostas significativas, utilizou-se o comando LSMEANS para verificar as diferenças entre os tratamentos para as diversas variáveis. As médias das tabelas foram obtidas pelo comando LSMEANS para as parcelas subdivididas.

As médias foram ainda submetidas à análise de contrastes ortogonais considerando os seguintes contrastes:

1 – Comparação da adição de óleo de soja à dieta em relação aos demais tratamentos (T1, T2, T3, T4 X T5).

2 – Comparação dos tratamentos levando em consideração o nível de inclusão de grão à dieta (T1, T3 X T2, T4).

3 – Comparação dos tratamentos levando em consideração a adição de semente de linhaça à dieta (T1, T2 X T3, T4).

4 – Analisar possível interação entre interação entre nível de inclusão de grão e adição de semente de linhaça (T1, T4 X T2, T3).

Foi considerado 5% ( $P < 0,05$ ) como nível de significância e até 20% como tendência ( $P < 0,20$ ) para probabilidade do teste F.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Composição das dietas experimentais

A composição das dietas experimentais encontra-se no Quadro 5.

Nutrientes (% MS)	Tratamentos <sup>1</sup>				
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5
MS	40,46	49,62	40,58	49,60	49,75
MO	92,89	93,35	93,15	93,16	93,61
PB	18,99	18,50	18,55	19,54	18,77
EE	2,24	2,11	4,72	4,63	4,59
FDN	34,69	25,53	35,39	26,37	26,96
FDA	22,38	16,38	22,43	17,18	16,07
ELI <sup>2</sup> , (Mcal/Kg)	1,67	1,89	1,83	1,97	1,99

<sup>1</sup> T1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, T2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, T3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, T4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e T5 - 60% de concentrado com óleo de soja.

<sup>2</sup> Calculado segundo o NRC

Quadro 5 - Composição nutricional das dietas experimentais.

O teor de PB das dietas manteve-se próximo entre os tratamentos, no entanto foi um pouco superior em relação ao idealizado.

Os teores de FDN estão de acordo com as recomendações do NRC (2001), porém os teores de FDA dos tratamentos T2, T4 e T5 ficaram abaixo dos valores indicados.

## 4.2 Consumo de matéria seca, matéria orgânica e nutrientes

As médias de cada tratamento para consumo de matéria seca, consumo de matéria orgânica e nutrientes podem ser observadas na Tabela 1. A tabela com a análise de contrastes encontra-se no Apêndice.

Tabela 1. Efeito do nível de concentrado e adição de gordura sobre consumo de MS, MO e nutrientes.

Consumo (Kg/d)	Tratamentos <sup>1</sup>					EPM <sup>2</sup>	P=F <sup>3</sup>
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5		
MS	17,01	19,08	17,03	18,07	18,31	0,80	0,36
MO	15,80	17,81	15,87	16,84	17,14	0,75	0,33
PB	3,23	3,53	3,16	3,53	3,43	0,15	0,33
EE	0,37 <sup>B</sup>	0,40 <sup>B</sup>	0,80 <sup>A</sup>	0,84 <sup>A</sup>	0,84 <sup>A</sup>	0,04	<0,01
FDN	5,90 <sup>A</sup>	4,88 <sup>B</sup>	6,02 <sup>A</sup>	4,76 <sup>B</sup>	4,97 <sup>B</sup>	0,22	<0,01
FDA	3,80 <sup>A</sup>	3,12 <sup>B</sup>	3,83 <sup>A</sup>	3,10 <sup>B</sup>	2,96 <sup>B</sup>	0,14	<0,01

<sup>1</sup> T1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, T2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, T3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, T4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e T5 - 60% de concentrado com óleo de soja.

<sup>2</sup> Erro padrão da média

<sup>3</sup> Probabilidade de haver efeito significativo entre os tratamentos

<sup>ABC</sup> Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem estatisticamente a 5% de significância segundo o teste t

O teste de médias não mostrou diferença significativa entre as médias dos tratamentos para consumo de MS, no entanto a análise de contrastes revelou uma tendência ( $P < 0,20$ ) no aumento do consumo de MS quando se forneceu aos animais dietas com baixo nível de fibra independente da adição de semente de linhaça, sendo observada a mesma tendência para o consumo de MO e PB ( $P < 0,20$ ).

As dietas com adição de semente de linhaça e óleo de soja apresentaram maior consumo de EE ( $P < 0,05$ ), o que também foi evidenciado pela análise de contraste de médias ( $P < 0,05$ ).

O consumo de FDN e FDA foi afetado pelos tratamentos ( $P < 0,05$ ), resultando em maior consumo para dietas com uma maior nível de fibra. O contraste entre as médias dos tratamentos também mostrou um efeito do nível de concentrado sobre estes parâmetros ( $P < 0,05$ ). O consumo de FDA foi ainda afetado pela suplementação com óleo de soja apresentando menor valor em relação aos demais tratamentos ( $P < 0,05$ ).

### **4.3 Produção e composição do leite**

A Tabela 2 apresenta os resultados de produção e composição de leite para cada tratamento. A tabela com a análise de contrastes encontra-se no Apêndice.

Não foram encontradas diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) para o efeito dos tratamentos sobre a produção de leite, o mesmo ocorrendo para leite corrigido para 3,5% de gordura ( $P > 0,05$ ).

O tratamento que continha óleo de soja apresentou uma tendência ( $P < 0,20$ ) na redução do teor de gordura do leite. No entanto a resposta em produção de gordura (Kg/d) não foi significativa ( $P > 0,05$ ), possivelmente pela produção de leite ter permanecido constante para todos os tratamentos.

A análise de contrastes evidenciou uma queda na concentração de proteína para o tratamento com adição de óleo de soja ( $P < 0,05$ ), porém a produção de proteína (Kg/d) não foi afetada ( $P > 0,05$ ).

O teor de lactose não mostrou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) em resposta às dietas experimentais.

Tabela 2. Efeito do nível de concentrado e adição de gordura na produção e composição do leite.

Parâmetros	Tratamentos <sup>1</sup>					EPM <sup>2</sup>	P=F <sup>3</sup>
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5		
Leite, Kg/d	22,99	22,05	21,47	23,30	23,18	1,67	0,91
Leite 3,5%, Kg/d	22,66	21,29	21,29	22,84	22,01	1,25	0,84
Gordura, %	3,49	3,30	3,50	3,44	3,20	0,14	0,46
Gordura, Kg/d	0,78	0,72	0,74	0,79	0,74	0,04	0,67
Proteína, %	3,17	3,15	3,10	3,23	3,06	0,04	0,10
Proteína, Kg/d	0,72	0,70	0,67	0,76	0,72	0,05	0,75
Lactose, %	4,54	4,54	4,62	4,57	4,59	0,05	0,75

<sup>1</sup> T1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, T2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, T3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, T4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e T5 - 60% de concentrado com óleo de soja.

<sup>2</sup> Erro padrão da média

<sup>3</sup> Probabilidade de haver efeito significativo entre os tratamentos

#### 4.4 Ácidos graxos não esterificados

As concentrações médias de ácidos graxos livres (AGL) no plasma encontra-se na Tabela 3. A tabela com a análise de contrastes encontra-se no Apêndice.

Houve um efeito do tratamento sobre a concentração plasmática de AGL ( $P < 0,05$ ) onde as maiores concentrações foram observadas para os tratamentos com baixa inclusão de grãos.

O contraste entre as médias dos tratamentos também mostrou um efeito do teor de concentrado ( $P < 0,05$ ), havendo apenas uma tendência ( $P < 0,20$ ) da adição de gordura sobre a concentração plasmática de AGL.

Tabela 3. Efeito do nível de concentrado e adição de gordura sobre a concentração plasmática de AGL.

Parâmetro	Tratamentos <sup>1</sup>					EPM <sup>2</sup>	P=F <sup>3</sup>
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5		
AGL, µM/l	91,82 <sup>A</sup>	69,52 <sup>B</sup>	95,53 <sup>A</sup>	84,95 <sup>AB</sup>	77,50 <sup>AB</sup>	5,69	0,04

<sup>1</sup> T1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, T2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, T3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, T4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e T5 - 60% de concentrado com óleo de soja.

<sup>2</sup> Erro padrão da média

<sup>3</sup> Probabilidade de haver efeito significativo entre os tratamentos

<sup>ABC</sup> Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem estatisticamente a 5% de significância segundo o teste t

## 4.5 Parâmetros ruminais

### 4.5.1 Concentração ruminal de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) no rúmen

Como pode ser observado na Tabela 4, houve uma resposta significativa ( $P < 0,05$ ) para efeito do tratamento (parcela), horário de coleta (subparcela) e interação tempo x tratamento.

O tratamento com alto teor de grãos e suplementação com semente de linhaça resultou em uma maior concentração de N-NH<sub>3</sub> no rúmen (27,74 mg/dl). Em relação aos horários de coleta, houve um aumento significativo na concentração após o fornecimento da dieta, sendo o maior acúmulo (29,17 mg/dl) encontrado 2 horas após a primeira leitura (21,58 mg/dl), representando uma variação de 7,59 mg/dl.

Houve interação tempo x tratamento ( $P < 0,05$ ) para todos os tratamentos em cada tempo de coleta. A variação diurna na concentração ruminal pode ser observada na Figura 1.

Tabela 4. Efeito do nível de concentrado e adição de gordura em cada tempo de coleta sobre a concentração de N-NH<sub>3</sub> ruminal

Tempo <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>					Subparcelas <sup>3</sup>
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	
0	18,47 <sup>b</sup>	20,60 <sup>b</sup>	21,65 <sup>ab</sup>	25,77 <sup>a</sup>	21,40 <sup>ab</sup>	21,58 <sup>CD</sup>
2	25,75 <sup>b</sup>	31,52 <sup>a</sup>	30,03 <sup>ab</sup>	33,22 <sup>a</sup>	25,35 <sup>b</sup>	29,17 <sup>A</sup>
4	27,22 <sup>ab</sup>	25,83 <sup>ab</sup>	24,65 <sup>ab</sup>	29,11 <sup>a</sup>	24,34 <sup>b</sup>	26,23 <sup>B</sup>
6	20,73 <sup>b</sup>	21,63 <sup>b</sup>	23,00 <sup>b</sup>	27,83 <sup>a</sup>	19,53 <sup>b</sup>	22,54 <sup>C</sup>
8	22,46 <sup>ab</sup>	19,45 <sup>b</sup>	21,40 <sup>ab</sup>	25,64 <sup>a</sup>	20,54 <sup>b</sup>	21,90 <sup>CD</sup>
10	18,29 <sup>bc</sup>	21,74 <sup>ab</sup>	16,70 <sup>c</sup>	24,86 <sup>a</sup>	21,27 <sup>abc</sup>	20,57 <sup>D</sup>
Parcelas <sup>4</sup>	22,15 <sup>b</sup>	23,46 <sup>b</sup>	22,90 <sup>b</sup>	27,74 <sup>a</sup>	22,07 <sup>b</sup>	

<sup>1</sup> Tempo após o fornecimento da dieta da manhã (h)

<sup>2</sup> T1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, T2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, T3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, T4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e T5 - 60% de concentrado com óleo de soja

<sup>3</sup> Médias dos tempos de coleta (Subparcelas)

<sup>4</sup> Médias dos tratamentos (Parcelas)

<sup>ABC</sup> Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente a 5% de significância segundo o teste t

<sup>abc</sup> Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem estatisticamente a 5% de significância segundo o teste t

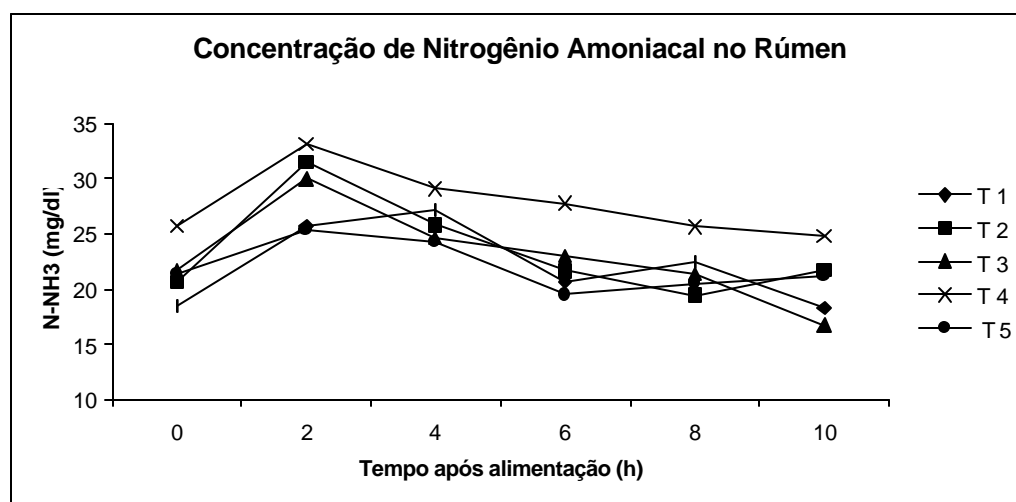


Figura 1- Variação diurna da concentração de nitrogênio amoniacal para cada tratamento nos diferentes horários de coleta.



### 4.5.2 pH Ruminal

Os valores referentes a leitura de pH encontram-se na Tabela 5. A variação de pH durante o dia em cada tratamento pode ser observada na Figura 2.

Houve uma tendência ( $P < 0,20$ ) de redução no pH onde os tratamentos (parcela) com alto teor de concentrado apresentaram valores numericamente menores. A interação tempo x tratamento não foi significativa ( $P > 0,05$ ).

O valor de pH variou durante o dia ( $P < 0,05$ ) reduzindo 2 horas após a alimentação em 0,29 unidades. O menor pH foi obtido 4 horas após a alimentação diminuindo em 0,46 unidades em relação a primeira leitura.

Tabela 5. Efeito do nível de concentrado e adição de gordura em cada tempo de coleta sobre o pH ruminal

Tempo <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>					Subparcelas <sup>3</sup>
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	
0	6,60	6,41	6,57	6,22	6,33	6,42 <sup>A</sup>
2	6,29	6,07	6,12	6,01	6,14	6,13 <sup>CD</sup>
4	6,20	5,98	6,09	6,03	5,99	6,06 <sup>D</sup>
6	6,26	6,05	6,12	5,91	6,00	6,07 <sup>D</sup>
8	6,31	6,05	6,17	6,14	6,14	6,16 <sup>C</sup>
10	6,47	6,33	6,36	6,25	6,17	6,32 <sup>B</sup>
Parcelas <sup>4</sup>	6,36	6,15	6,24	6,09	6,13	

<sup>1</sup> Tempo após o fornecimento da dieta da manhã (h)

<sup>2</sup> T1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, T2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, T3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, T4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e T5 - 60% de concentrado com óleo de soja.

<sup>3</sup> Médias dos tempos de coleta (Subparcelas)

<sup>4</sup> Médias dos tratamentos (Parcelas)

<sup>ABC</sup> Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente a 5% de significância segundo o teste t

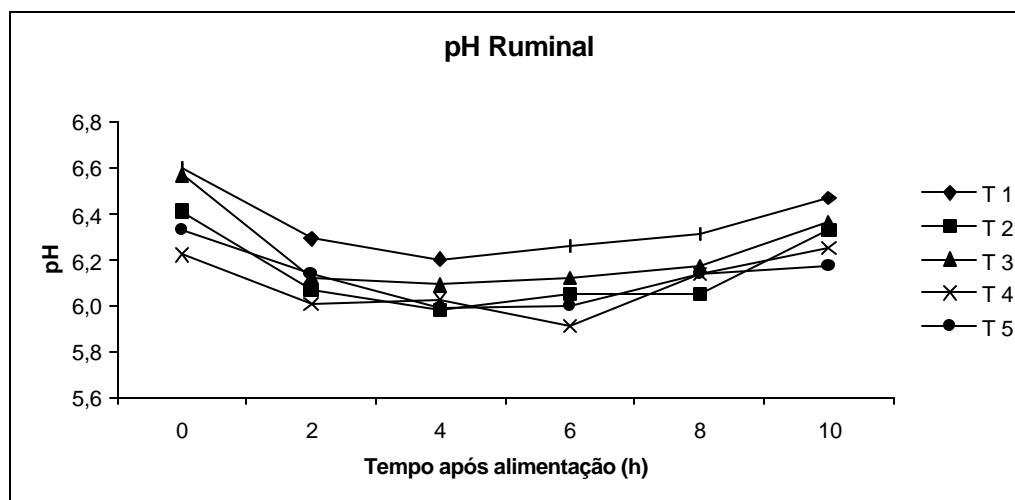


Figura 2 - Variação diurna de pH para cada tratamento nos diferentes horários de coleta.

#### 4.5.3 Concentração ruminal de AGV totais

Na Tabela 6 pode-se observar os valores para concentração de AGV totais nos tempos e tratamentos avaliados. A Figura 3 ilustra a variação na concentração em cada tempo no transcorrer do dia.

Não houve resposta significativa para interação tempo x tratamento ( $P > 0,05$ ) e apenas uma tendência de efeito ( $P < 0,20$ ) do tratamento sobre a concentração de AGV total no rúmen, ocorrendo um maior acúmulo nos tratamentos com alto teor de concentrado.

A concentração ruminal foi influenciada pelo tempo ( $P < 0,05$ ). No momento do fornecimento da dieta a concentração média de AGV no fúido ruminal era de 105,73 mM, sendo que o maior valor obtido foi cerca de 6 horas após a alimentação (117,03 mM) resultando numa variação de 11,3 mM.

Tabela 6. Efeito do nível de concentrado e adição de gordura em cada tempo de coleta sobre a concentração de AGV totais no fluido ruminal (mM).

Tempo <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>					Subparcelas <sup>3</sup>
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	
0	109,09	107,79	103,38	108,67	99,73	105,73 <sup>B</sup>
2	118,98	123,91	112,11	115,50	106,56	115,41 <sup>A</sup>
4	113,43	125,46	106,54	115,97	112,40	114,76 <sup>A</sup>
6	111,47	125,68	114,84	119,75	113,41	117,03 <sup>A</sup>
8	109,23	120,32	113,28	107,98	118,70	113,90 <sup>A</sup>
10	98,65	114,69	106,03	122,14	112,42	110,79 <sup>AB</sup>
Parcelas <sup>4</sup>	110,14	119,64	109,37	115,00	110,54	

<sup>1</sup> Tempo após o fornecimento da dieta da manhã (h)

<sup>2</sup> T1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, T2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, T3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, T4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e T5 - 60% de concentrado com óleo de soja

<sup>3</sup> Médias dos tempos de coleta (Subparcelas)

<sup>4</sup> Médias dos tratamentos (Parcelas)

<sup>ABC</sup> Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente a 5% de significância segundo o teste t

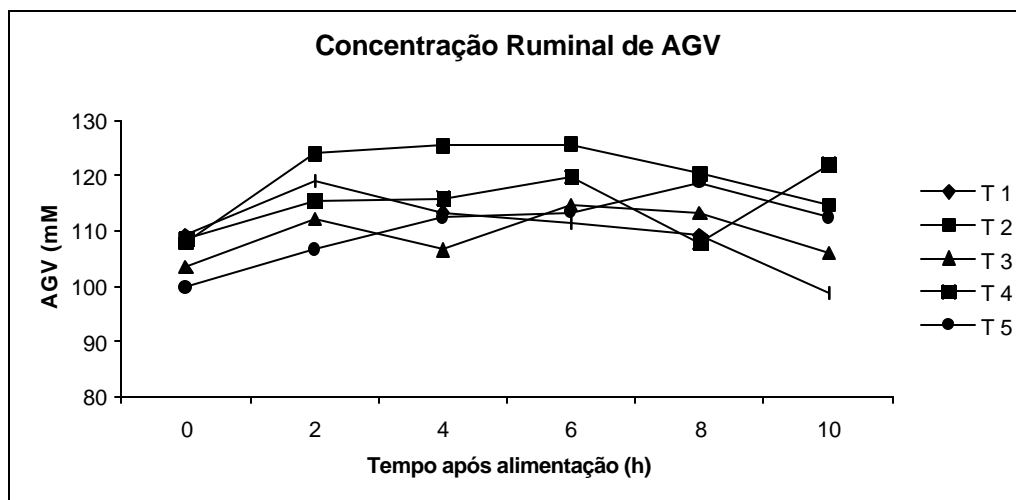


Figura 3 - Variação diurna da concentração de AGV total para cada tratamento nos diferentes horários de coleta.

#### 4.5.4 Concentração ruminal de ácido acético

Os resultados obtidos para concentração de ácido acético no rúmen encontram-se na Tabela 7. A variação na concentração, de acordo com os tratamentos em cada tempo de coleta, pode ser observado na Figura 4.

Tabela 7. Efeito do nível de concentrado e adição de gordura em cada tempo de coleta sobre a concentração de ácido acético no fluido ruminal (mM).

Tempo <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>					Subparcelas <sup>3</sup>
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	
0	72,8	68,02	68,14	66,70	62,61	67,65 <sup>B</sup>
2	76,95	76,51	71,04	71,48	66,79	72,55 <sup>A</sup>
4	71,49	77,12	67,73	70,66	69,36	71,27 <sup>AB</sup>
6	72,43	76,41	71,71	71,84	69,99	72,48 <sup>A</sup>
8	71,46	73,42	71,16	65,74	72,05	70,76 <sup>AB</sup>
10	63,98	71,20	67,29	70,42	68,28	68,24 <sup>B</sup>
Parcelas <sup>4</sup>	71,52	73,78	69,51	69,47	68,18	

<sup>1</sup> Tempo após o fornecimento da dieta da manhã (h)

<sup>2</sup> T1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, T2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, T3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, T4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e T5 - 60% de concentrado com óleo de soja

<sup>3</sup> Médias dos tempos de coleta (Subparcelas)

<sup>4</sup> Médias dos tratamentos (Parcelas)

<sup>ABC</sup> Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente a 5% de significância segundo o teste t

A interação tempo x tratamento não teve efeito sobre a concentração molar de ácido acético no rúmen ( $P > 0,05$ ).

A concentração de ácido acético variou de acordo com o momento da coleta ( $P < 0,05$ ) durante o dia. A maior concentração ocorreu 2 horas após a alimentação (72,55 mM), valor este superior 4,9 mM em relação a primeira leitura, realizada antes da alimentação.

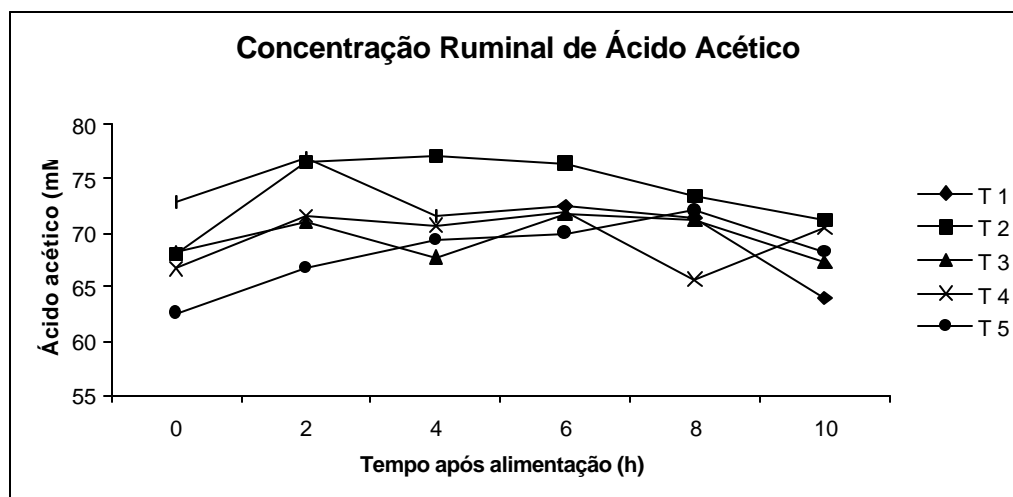


Figura 4 - Variação diurna da concentração de ácido acético para cada tratamento nos diferentes horários de coleta.

#### 4.5.5 Concentração ruminal de ácido propiônico

A Tabela 8 apresenta os dados para concentração molar de ácido propiônico e suas médias para horário de coleta e tratamento. As flutuações na concentração diurna são retratadas na Figura 5.

Não foram encontradas diferenças ( $P > 0,05$ ) para a interação tempo x tratamento. As dietas com alto teor de grão, com e sem adição de linhaça tenderam ( $P < 0,20$ ) a aumentar a concentração molar de ácido propiônico.

O efeito do horário de coleta ( $P < 0,05$ ) mostra um aumento significativo na concentração de ácido propiônico (2,62 mM) 2 horas após o fornecimento da dieta, ocorrendo um maior acúmulo cerca de 6 horas após a alimentação (28,91mM).

Tabela 8. Efeito do nível de concentrado e adição de gordura em cada tempo de coleta sobre a concentração de ácido propiônico no rúmen (mM).

Tempo <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>					Subparcelas <sup>3</sup>
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	
0	20,93	25,14	24,26	28,32	25,88	24,91 <sup>B</sup>
2	25,46	29,73	27,39	29,88	25,14	27,52 <sup>A</sup>
4	25,28	31,14	26,60	32,21	27,51	28,55 <sup>A</sup>
6	23,63	31,55	29,50	31,73	28,16	28,91 <sup>A</sup>
8	23,36	30,00	29,32	28,60	29,70	28,20 <sup>A</sup>
10	21,01	27,44	27,21	31,21	27,78	26,93 <sup>AB</sup>
Parcelas <sup>4</sup>	23,28	29,17	27,38	30,33	27,36	

<sup>1</sup> Tempo após o fornecimento da dieta da manhã (h)

<sup>2</sup> T1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, T2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, T3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, T4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e T5 - 60% de concentrado com óleo de soja

<sup>3</sup> Médias dos tempos de coleta (Subparcelas)

<sup>4</sup> Médias dos tratamentos (Parcelas)

<sup>ABC</sup> Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente a 5% de significância segundo o teste t

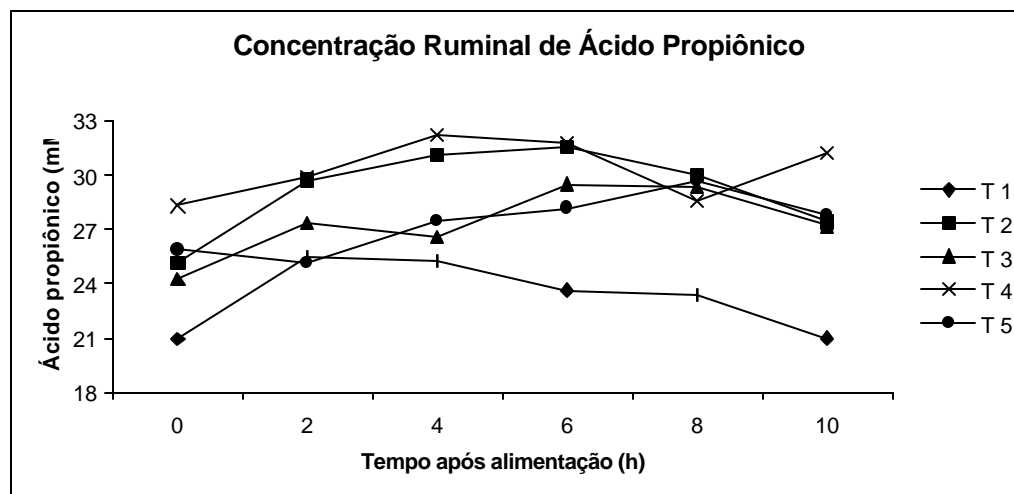


Figura 5 - Variação diurna da concentração de ácido propiônico para cada tratamento nos diferentes horários de coleta.

#### 4.5.6 Relação Acetato:Propionato

Os dados referentes a relação acetato:propionato em cada tempo e tratamento e as médias dos tratamentos (parcelas) e horários de coleta (subparcela) podem ser observados na Tabela 9. Pode-se notar que houve uma interação tempo x tratamento ( $P < 0,05$ ) nos tempos 0, 2, 6, 8 e 10 horas após a alimentação.

O maior valor ( $P < 0,05$ ) foi encontrado no momento de fornecimento da dieta (2,84) apresentando um comportamento decrescente até 8 horas após a primeira leitura (2,55).

Tabela 9. Efeito do nível de concentrado e adição de gordura em cada tempo de coleta sobre a relação acetato:propionato no rúmen (mM).

Tempo <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>					Subparcelas <sup>3</sup>
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	
0	3,40	2,80	2,84	2,39	2,76	2,84 <sup>A</sup>
2	2,95	2,61	2,61	2,42	2,83	2,68 <sup>B</sup>
4	2,75	2,53	2,55	2,36	2,61	2,56 <sup>C</sup>
6	3,01	2,45	2,44	2,27	2,64	2,56 <sup>C</sup>
8	2,83	2,52	2,44	2,33	2,61	2,55 <sup>C</sup>
10	3,00	2,70	2,53	2,44	2,61	2,66 <sup>B</sup>
Parcelas <sup>4</sup>	2,99	2,60	2,57	2,37	2,68	

<sup>1</sup> Tempo após o fornecimento da dieta da manhã (h)

<sup>2</sup> T1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, T2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, T3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, T4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e T5 - 60% de concentrado com óleo de soja

<sup>3</sup> Médias dos tempos de coleta (Subparcelas)

<sup>4</sup> Médias dos tratamentos (Parcelas)

<sup>ABC</sup> Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente a 5% de significância segundo o teste t

A variação diurna na relação acetato:propionato para os valores da relação acetato:propionato encontra-se na Figura 6. As dietas com alto teor de concentrado apresentaram uma tendência ( $P < 0,20$ ) na redução da relação acetato:propionato. O mesmo efeito pôde ser observado para as dietas onde houve suplementação com semente de linhaça, evidenciado também pela análise de contraste das médias ( $P < 0,05$ ).

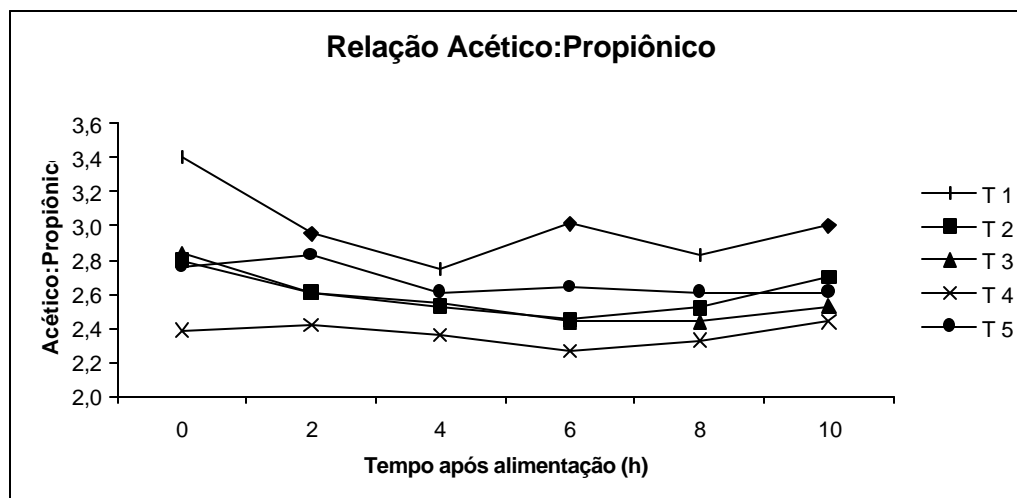


Figura 6 - Variação diurna na relação acetato:propionato para cada tratamento nos diferentes horários de coleta.

#### 4.5.7 Concentração ruminal de ácido butírico

A Tabela 10 apresenta os dados de concentração molar de ácido butírico e as médias para cada tratamento (parcela) e horário de coleta (subparcela). As flutuações diurnas podem ser melhor visualizadas na Figura 7.

Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) da interação tempo x tratamento sobre a concentração de ácido butírico, porém diferenças foram encontradas para o efeito de tempo e tratamento influenciando os valores de concentração de ácido butírico ( $P < 0,05$ ).

A dieta com baixo teor de concentrado com adição de semente de linhaça resultou ( $P < 0,05$ ) em menor acúmulo de ácido butírico em relação aos demais tratamentos.

A média da variação diurna mostra que houve um aumento significativo a partir da coleta que antecede o fornecimento da dieta, aumentando a concentração em 1,61 mM cerca de 4 a 6 horas em relação ao primeiro horário de leitura (14,37).



Tabela 10. Efeito do nível de concentrado e adição de gordura em cada tempo de coleta sobre a concentração de ácido butírico no rúmen (mM).

Tempo <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>					Subparcelas <sup>3</sup>
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	
0	15,59	15,39	11,58	13,91	15,39	14,37 <sup>C</sup>
2	16,69	17,82	14,20	15,69	15,05	15,89 <sup>A</sup>
4	16,52	17,58	12,91	16,63	16,26	15,98 <sup>A</sup>
6	15,51	17,83	14,30	16,00	16,27	15,98 <sup>A</sup>
8	17,09	16,90	13,41	13,87	17,01	15,66 <sup>AB</sup>
10	13,62	15,80	12,04	15,37	16,29	14,62 <sup>BC</sup>
Parcelas <sup>4</sup>	15,83 <sup>a</sup>	16,89 <sup>a</sup>	13,08 <sup>b</sup>	15,25 <sup>a</sup>	16,04 <sup>a</sup>	

<sup>1</sup> Tempo após o fornecimento da dieta da manhã (h)

<sup>2</sup> T1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, T2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, T3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, T4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e T5 - 60% de concentrado com óleo de soja

<sup>3</sup> Médias dos tempos de coleta (Subparcelas)

<sup>4</sup> Médias dos tratamentos (Parcelas)

<sup>ABC</sup> Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente a 5% de significância segundo o teste t

<sup>abc</sup> Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem estatisticamente a 5% de significância segundo o teste t

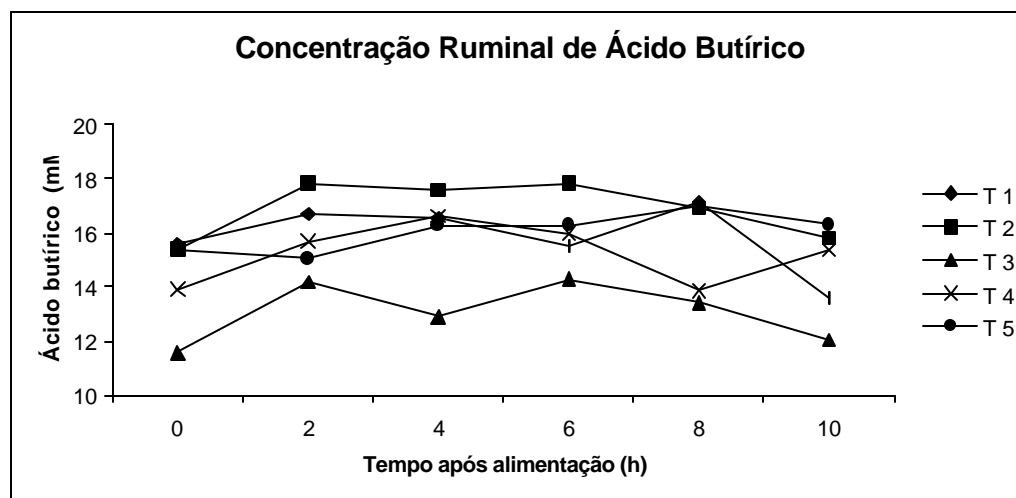


Figura 7 - Variação diurna da concentração de ácido butírico para cada tratamento nos diferentes horários de coleta.

#### 4.5.8 Efeito dos tratamentos sobre os parâmetros ruminiais

As médias dos parâmetros ruminiais encontradas para os tratamentos podem ser observadas na Tabela 11. A tabela com a análise de contrastes encontra-se no Apêndice.

Tabela 11. Efeito do nível de concentrado e adição de gordura sobre os parâmetros ruminiais.

Parâmetro	Tratamentos <sup>1</sup>					EPM <sup>2</sup>	P=F <sup>3</sup>
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5		
pH	6,36	6,15	6,24	6,09	6,13	0,07	0,06
N-NH <sub>3</sub> , mg/dl	22,15 <sup>B</sup>	23,46 <sup>B</sup>	22,90 <sup>B</sup>	27,74 <sup>A</sup>	22,07 <sup>B</sup>	1,49	0,02
Ácidos graxos voláteis, mM							
AGV Total	110,14	119,64	109,37	115,00	110,54	3,52	0,16
Acetato (A)	71,52	73,78	69,51	69,47	68,18	1,64	0,16
Propionato (P)	23,28	29,17	27,38	30,33	27,36	1,94	0,13
Relação A:P	2,99	2,60	2,57	2,37	2,68	0,18	0,13
Butirato	15,83 <sup>A</sup>	16,89 <sup>A</sup>	13,08 <sup>B</sup>	15,25 <sup>A</sup>	16,04 <sup>A</sup>	1,05	0,01

<sup>1</sup> T1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, T2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, T3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, T4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e T5 - 60% de concentrado com óleo de soja

<sup>2</sup> Erro padrão da média

<sup>3</sup> Probabilidade de haver efeito significativo entre os tratamentos

<sup>ABC</sup> Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem estatisticamente a 5% de significância segundo o teste t

A análise de contrastes das médias mostrou um efeito do nível de inclusão de grãos e da adição de semente de linhaça à dieta ( $P < 0,05$ ) sobre a concentração ruminal de N-NH<sub>3</sub>. Os tratamentos com alta relação concentrado:volumoso, assim como os tratamentos onde houve inclusão de linhaça apresentaram maior concentração de N-NH<sub>3</sub> em relação aos demais.

Houve um efeito do nível de concentrado ( $P < 0,05$ ) sobre a variação de pH ruminal e concentração de AGV total. As dietas com maior nível de concentrado resultaram em menor valor de pH ruminal e maior concentração de AGV no rúmen. A adição de semente de linhaça apresentou uma tendência na redução do pH ( $P < 0,20$ ).

A análise de contrastes entre as médias dos tratamentos mostrou um efeito da adição de semente de linhaça sobre a concentração de ácido acético ( $P < 0,05$ ). Os tratamentos onde houve inclusão de semente de linhaça mostraram uma menor concentração (69,51 e 69,47 mM/l) em relação às dietas sem adição de gordura (71,52 e 73,78 mM/l). Houve também uma tendência na redução da concentração molar de ácido acético quando se comparou a dieta com óleo de soja em relação às demais ( $P < 0,20$ ).

O nível de inclusão de grãos afetou a concentração molar de ácido propiônico ( $P < 0,05$ ) onde maiores valores foram observados para dietas com baixa relação forragem:concentrado. A adição de semente de linhaça à dieta mostrou uma tendência ( $P < 0,20$ ) em aumentar a concentração de ácido propiônico no rúmen. O contraste entre as médias dos tratamentos mostrou um efeito ( $P < 0,05$ ) da adição da semente de linhaça e uma tendência ( $P < 0,20$ ) da alta inclusão de grãos, na redução relação acetato:propionato.

A concentração de ácido butírico foi afetada pelo nível de concentrado ( $P < 0,05$ ), refletindo num aumento em situações com maior inclusão de grãos. No entanto a adição de semente de linhaça resultou numa queda da concentração ruminal de ácido butírico ( $P < 0,05$ ).

#### **4.6 Digestibilidade da matéria seca e nutrientes**

Em função de problemas na recuperação do marcador decorrente de dados inconsistentes na concentração de cromo das amostras não foi possível a determinação da digestibilidade no rúmen e trato digestivo total, assim como o cálculo de fluxo de nutrientes para o duodeno.

## 5 DISCUSSÃO

O consumo de matéria seca é muitas vezes influenciado pela suplementação da dieta com fontes lipídicas tanto em relação à quantidade de gordura utilizada como a fonte escolhida. Os efeitos são mais evidentes quando a fonte utilizada é rica em AG insaturados, o que segundo alguns autores interfere com o metabolismo ruminal (De Luca & Jenkins, 2000), principalmente na digestibilidade da fibra (Coppock & Wilks, 1991) podendo ocasionar uma redução na taxa de passagem (Allen, 2000) e com isso uma queda no consumo. Benson et al. (2001) realizando infusão abomasal com uma mistura de óleo de canola e óleo de girassol (fontes de gordura insaturada) encontrou uma redução na ingestão de matéria seca, mas o consumo de energia metabolizável não foi alterado.

No presente trabalho não houve efeito da adição de gordura sobre o consumo de matéria seca, o que está de acordo com os resultados encontrados por Dhiman et al. (2000) utilizando óleo de soja e óleo de linhaça aos mesmos níveis de inclusão. Outros trabalhos com fontes de gordura, como sebo e óleo resíduo de restaurante (Avila et al., 2000), ou óleo de linhaça, amendoim ou linhaça (Kelly et al., 1998) também não apresentaram efeito da adição de gordura sobre o consumo de matéria seca. Porém os animais que receberam dietas com menor nível de fibra na dieta tenderam a apresentar um maior consumo de MS, possivelmente pela ausência de efeito de enchimento no rúmen (Allen, 2000), decorrente do menor consumo de FDN. O consumo de MO e PB também seguiram a mesma tendência, havendo um maior consumo em dietas com maior inclusão de concentrado.

A suplementação com fontes de gordura é citada como uma estratégia para aumentos na produção de leite de vacas de alta produção. A gordura é responsável por um aumento na densidade energética da dieta, acrescentando assim o consumo de energia metabolizável. Entretanto, os dados de aumento de produção são algumas vezes inconsistentes ou variáveis, uma vez que os lipídeos podem causar alguns efeitos não desejáveis, como queda no consumo de matéria seca e alterações no padrão de fermentação ruminal. A suplementação com gordura irá alterar o suprimento de nutrientes (Romo et al., 2000), sendo com isto necessário ajustes na formulação da dieta, para que o metabolismo dos microrganismos do rúmen não seja afetado.

Segundo Grummer & Carroll (1991) o aumento na concentração de ácidos graxos não esterificados no plasma é esperado em situações onde há suplementação com uma fonte de gordura. A concentração de ácidos graxos não esterificados no plasma aumentou com a infusão abomasal de AG *cis* e *trans* C<sub>18:1</sub> (Romo et al., 2000), resultado esse de acordo com o encontrado por Vazquez-Añon (1997) utilizando uma fonte de gordura animal. Entretanto, no presente trabalho a concentração plasmática foi maior para os tratamentos com alta relação forragem:concentrado, independente da adição de gordura à dieta.

A produção de leite não foi afetada pelos tratamentos apresentando comportamento semelhante para todas as dietas experimentais. No entanto, é importante ressaltar que o modelo de estudo nutricional adotado não é o mais adequado para avaliação de desempenho de lactação. Estes dados são consistentes aos encontrados por Khorasani & Kennelly (1998) para produção de leite utilizando semente de canola e Benson et al. (2001) em trabalho realizado com infusão abomasal de uma mistura de óleo de girassol e óleo de canola. Trabalhos comparando o efeito da semente de canola, protegida ou não, mostraram pequena redução na produção de leite e teor de proteína com a adição de gordura, possivelmente pela inibição da fermentação ruminal ou redução no consumo de matéria seca e nutrientes (Delbecchi et al., 2001).

Em relação a composição do leite, Bauman & Griinari (2001), citam que as teorias que explicam a redução na produção de gordura do leite podem ser divididas em duas linhas. A primeira considera a redução da gordura do leite como sendo consequência de um inadequado suprimento de precursores diretos para síntese de gordura na glândula mamária. Esta teoria inclui a ausência de níveis adequados de precursores como o acetato e  $\beta$  Hidróxi Butirato, ou ação da insulina sobre o tecido adiposo sendo regulada pela maior concentração de carboidratos rapidamente fermentáveis no rúmen e redução no nível de fibra. No entanto, segundo o autor esta teorias não apresentam dados consistentes com a redução de gordura no leite. A segunda teoria, que é a mais aceita na atualidade, envolve uma inibição direta de um ou mais passos da síntese de gordura na glândula mamária, incluindo a ação de metilmalonato e AG *trans* C<sub>18:1</sub>. Neste experimento 3 fatores poderiam estar afetando a produção de gordura no leite: formação de isômeros *trans* no rúmen, a adição de gordura e o nível de concentrado da dieta, sendo que estes dois últimos aspectos podem estar afetando diretamente a formação dos isômeros *trans*.

O teor de gordura no leite apresentou uma tendência de queda quando o óleo de soja (rico em ácido linoléico) foi a fonte de gordura empregada, não sofrendo influência pela adição de semente de linhaça à dieta. Apesar dos fatores que normalmente induzem uma queda de gordura no leite, como baixo nível de fibra e adição de gordura estarem presentes, a ausência de efeito significativo sobre a produção de gordura no leite se deve possivelmente ao fato de não ter havido desafio de fermentação ruminal suficiente.

O maior consumo de EE para as dietas com adição de gordura afetou a concentração ruminal de ácido acético. O tratamento com óleo de soja refletiu numa tendência de queda na concentração de ácido acético e redução na gordura do leite. No entanto, como citado por Bauman & Griinari (2001) os dados que relacionam o suprimento inadequado de acetato para a glândula mamária e redução de gordura no leite são inconsistentes, não sendo esse, portanto, o melhor caminho para uma possível explicação na tendência de

redução no teor de gordura. Um outro aspecto que invalida essa possível explicação está no fato da redução nas concentrações molares de acetato e butirato no rúmen, em função do fornecimento de semente de linhaça, não estar relacionada com a redução na gordura do leite, que ocorreu somente quando se adicionou óleo de soja à dieta. Uma melhor relação estaria de acordo com a segunda teoria exposta por Bauman & Griinari (2001), onde o óleo de soja possivelmente possibilitou uma maior produção ruminal de AG *trans* C<sub>18:1</sub>, interferindo no teor de gordura do leite. A concentração de ácido acético foi também influenciada pela adição de semente de linhaça à dieta tendo sua concentração reduzida. Contudo esse fato não refletiu na produção ou teor de gordura no leite.

Uma possibilidade para o maior efeito do óleo de soja sobre a concentração de gordura no leite em relação à semente de linhaça reside no fato de que quando a fonte de gordura é fornecida na forma de sementes oleaginosas, as alterações no ambiente ruminal podem ser significativamente reduzida, uma vez que o óleo é liberado mais lentamente (Coppock & Wilks, 1991).

O acúmulo de *trans* C<sub>18:1</sub> no rúmen-retículo pode ser decorrente de uma resposta do ambiente ruminal às condições de baixo pH, presença de ionóforos ou alta concentração de AG (Bessa et al., 2000). Piperova et al. (2000) demonstraram que o isômero encontrado em maior quantidade na gordura do leite de animais recebendo 5% de óleo de soja foi o *trans*-10 C<sub>18:1</sub>, representando 60% do total de AG *trans* C<sub>18:1</sub>.

Quando a suplementação com gordura diminui a ingestão de matéria seca, as concentrações de propionato no rúmen e secreção de insulina também podem ser reduzidas. A menor produção de propionato pode aumentar a utilização de aminoácidos para gluconeogênese e reduzir a disponibilidade de aminoácidos para síntese de proteína no leite (Khorasani & Kennelly, 1998). A concentração de propionato no rúmen não foi afetada pela adição de óleo de soja à dieta, no entanto, a concentração de proteína do leite de vacas

recebendo essa dieta foi reduzida, não indicando uma relação entre concentração de propionato ruminal e teor de proteína no leite.

Lor & Herbein (1998) submetendo os animais a uma infusão com ácido linoléico ou uma mistura de ácido linoléico e CLA observaram uma redução na concentração e produção de gordura e concentração de proteína do leite. Resultados similares foram encontrados por Piperova et al. (2000) para concentração de gordura, no entanto, houve um aumento na concentração e produção de proteína no leite. Os autores relacionaram a queda na gordura do leite com uma redução na síntese de ácidos graxos de cadeia curta e média pela glândula mamária.

A redução na ingestão de matéria seca, porcentagem de gordura no leite e digestão de fibra no rúmen são indicadores de alterações no padrão de fermentação no rúmen. A taxa na qual os AG insaturados são liberados das sementes oleaginosas e expostos aos microrganismos do rúmen determinam o quanto a fermentação é afetada (NRC, 2001).

Neste trabalho, o pH apresentou uma tendência de queda quando se forneceu dietas com inclusão de semente de linhaça. Quando se comparou os tratamentos em relação ao nível de concentrado, observou-se uma queda de pH para os tratamentos com baixa relação forragem:concentrado. A concentração de AGV totais foi maior para os tratamentos com alta inclusão de concentrado independente da adição de semente de linhaça, o que está de acordo com os resultados obtidos para valor de pH no rúmen. Scollan et al. (2001) não observaram efeito das fontes de gordura (Megalac, semente de linhaça e óleo de peixe) sobre o pH ruminal em novilhos de corte, no entanto, maiores médias foram encontradas para AGV totais nos tratamentos que continham semente de linhaça e óleo de peixe.

A concentração de N-NH<sub>3</sub> ruminal foi maior para dietas com baixo nível de fibra e adição de semente de linhaça, dieta essa que possuía o maior teor de PB resultando em um maior acúmulo de N-NH<sub>3</sub> no rúmen em relação às demais dietas, provavelmente decorrente de uma baixa utilização de N-NH<sub>3</sub>



pelos microrganismos ruminais. Com isso, pode-se considerar um efeito da semente de linhaça sobre as bactérias celulolíticas, uma vez que estas utilizam preferencialmente  $N-NH_3$  como fonte de nitrogênio para síntese de proteína microbiana. Estes dados estão de acordo com a tendência de menor pH e concentração de ácido acético para os tratamentos onde houve suplementação com sementes de linhaça. Resultados similares foram encontrados para novilhos de corte alimentados com dietas contendo semente de linhaça e óleo de peixe (Scolan et al., 2001) e dietas contendo óleo de peixe (Keady & Mayne, 1999), causando uma tendência no aumento da concentração de  $N-NH_3$  no rúmen. No entanto, Avila et al. (2000) não encontraram efeito da adição de sebo e óleo resíduo de restaurante para vacas em lactação sobre a concentração ruminal de  $N-NH_3$ , não observando também alguma relação entre esta concentração e a ingestão de AG insaturados.

As bactérias celulolíticas são associadas por alguns autores (Palmquist & Jenkins, 1980; Harfoot & Hazlewood, 1988) à atividade de biohidrogenação no rúmen. Considerando que o maior acúmulo de  $N-NH_3$  pode ter sido decorrente de um efeito deletério sobre os microrganismos ruminais, devido ao fornecimento da dieta com baixo nível de fibra e à suplementação com semente de linhaça, pode-se utilizar esse resultado como um indicador de maior passagem de AG insaturados para o duodeno.

O maior consumo de FDN e FDA não afetou a concentração molar de acetato em dietas com maior nível de fibra. Este fato associado à tendência na redução do CMS pode indicar uma possível inibição das bactérias celulolíticas no rúmen, sugerindo uma restrição na digestibilidade da fibra.

As concentrações molares de propionato e butirato seguiram a mesma tendência, apresentando maiores valores em dietas de baixa relação forragem:concentrado coincidindo com a redução de pH. Os resultados dos parâmetros ruminais estão de acordo com os encontrados por Kalscheur et al. (1997b), onde os autores avaliaram dietas com baixa (25%) e alta (60%) proporção de forragem, observando menor pH, maior concentração de AGV's

totais, menor proporção de ácido acético e maiores proporções para ácido propiônico e ácido butírico para dietas com menor nível de fibra.

As dietas de alta inclusão de grãos propiciaram um maior consumo de MO, o que possivelmente tornou o ambiente mais favorável para desenvolvimento de bactérias amilolíticas, direcionando a fermentação para ácido propiônico. Esse resultado refletiu numa tendência de menor relação acetato:propionato quando se contrastou tratamentos em relação ao nível de inclusão de grão à dieta.

## **6 CONCLUSÕES**

A suplementação com semente de linhaça como recurso para aumento na densidade energética em dietas com diferentes níveis de fibra, não resultou em benefícios na produção e composição do leite de vacas Holandesas produzindo cerca de 22,6 Kg/d de leite.

O fornecimento de óleo de soja não afetou a produção, mas os teores de gordura e proteína do leite foram reduzidos.

A redução no nível de fibra na dieta afetou o ambiente ruminal refletindo em um menor pH e um aumento nas concentrações de N-NH<sub>3</sub>, ácido acético e ácido butírico, causando também uma redução na concentração de AGL no sangue. A concentração molar de ácido acético foi reduzida em dietas suplementadas com semente de linhaça.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALL, T.; TAMAKI, M.; SHIMABUKURO; H.; KIYOSUE; S.; NAKANO, M.; HAYASAWA, H.; SHIMIZU, T.; ISHIDA, S. The production of milk rich in  $\alpha$ -linolenic acid by feeding a large amount of linseed to cows. **Animal Science and Technology**, v.69, n.9, p.841-852, 1998.
- 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.1598-1624, 2000.
- ASHES, J. R.; GULATI, S. K.; SCOTT, T. W. Potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. Symposium: New approaches to changing milk composition. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.7, p.1505-1519, 1997.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 12. ed. Washington, 1990. 1028p.
- AVILA, C.D.; DePETERS, E. J.; PEREZ-MONTI, H.; TAYLOR, S. J.; ZINN, R. A. Influences of saturation ratio of supplemental dietary fat on digestion and milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.9, p.2204-2212, 2000.
- BAUMAN, D; GRIINARI, J. M. Biosynthesis of CLA and its incorporation into meat and milk of ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.117, Suppl. 1, 1999.
- BAUMAN, D; GRIINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v.70, p.15-29, 2001.
- BAUMGARD, L.; CORL, B.; DWYER, D. SAEBO, A.; BAUMAN, D. E. Identification of CLA isomer responsible for milk fat depression. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.118, Suppl. 1, 1999.

- BAUCHART, D. Lipid absorption and transport in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.12, p.3864-3881, 1993.
- BENSON, J. A.; REYNOLDS, C. K.; HUMPHRIES, D. J.; RUTTER, S. M.; BEEVER, D. E. Effects of abomasal infusion of long chain fatty acids on intake, feeding behavior and milk production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.5, p.1182-1191, 2001.
- BESSA, R. J.; SANTOS-SILVA, J.; RIBEIRO, J.; PORTUGAL, A. Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. **Livestock Production Science**, v.63, p.201-211, 2000.
- BONDI, A. A. Lipids and their significance in the nutrition of monogastric and ruminant animals. In: **Animal nutrition**. New York: John Wiley, 1987. cap.6, p.78-105.
- CANT, J. P.; DePETERS, E. J.; BALDWIN, R. L. Mammary uptake of energy metabolites in dairy cows fed fat and its relationship to milk protein depression. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.8, p.2254-2265, 1993.
- CHANEY, A. L.; MARBACH, E. P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, p.130-137, 1962.
- CHILLIARD, Y. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs and rodents: a review. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.12, p.3897-3931, 1993.
- CHILLIARD, Y.; TERLAY, A.; DOREAU, M. Effect of different types of forage, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. **Livestock Production Science**, v.70, p.31-48, 2001.
- CHOUINARD, P. Y.; GIRARD, V.; BRISSON, G. H. Fatty acid profile and physical properties of milk fat from cows fed calcium salts of fatty acids with varying unsaturation. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.2, p.471-481, 1998.
- CHOUINARD, Y.; CORNEAU, L.; BARBANO, D. M.; METZGER, L. E.; BAUMAN, D. E. Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. **Journal of Nutrition**, v. 129, p.1579-1584, 1999.

- CHOUINARD, P. Y.; CORNEAU, L.; BUTLER, W. R.; CHILLIARD, Y.; DRACKLEY, J. K.; BAUMAN, D. E. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentration in milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.3, p.680-690, 2001.
- CHURCH, D. C. **The ruminant animal: digestive, physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: Simon & Schuster, 1988. 543p.
- COPPOCK, C. E.; WILKS, D. L. Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: effects on intake, digestion, milk yield and composition. **Journal of Animal Science**, v.69, p.3826-3837, 1991.
- CZERKAWSKI, J. W.; CLAPPERTON, J. L. Fats as energy-yielding compounds in the ruminant diet. In: WISEMAN, J. **Fats in animal nutrition**. Boston: Butterworths, 1984. p.249.
- 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 canola seeds. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.6, p.1375-1381, 2001.
- DeLUCA, D. D.; JENKINS, T. C. Feeding oleamide to lactating Jersey cows. 2. Effects on nutrient digestibility, plasma fatty acids and hormones. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.3, p.569-576, 2000.
- DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.58, p.593-607, 1999.
- DHIMAN, T. 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 acid. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.5, p.1016-1026, 2000.
- DONOVAN, D. C.; SCHINGOETHE, D. J.; BAER, R. J.; RYALI, J.; HIPPEN, A. R.; FRANKLINS, S. T. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.11, p.2620-2628, 2000.
- DRACKLEY, J. K.; BEAULIEU, A.D.; ELLIOTT, J. P. Responses of milk fat composition to dietary fat or nonstructural carbohydrates in Holstein and Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.5, p.1231-1237, 2001.

- FOCANT, M.; MIGNOLET, E.; MARIQUE, M.; CLABOTS, F.; BREYNE, T.; DALEMANS, D.; LARONDELLE, Y. The effect of vitamin E supplementation of cow diets containing rapeseed and linseed on the prevention of milk oxidation. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.4, p.1095-1101, 1998.
- GRIINARI, J. M.; DWYER, D. A.; MCGUIRE, M. A.; BAUMAN, D. E.; PALMQUIST, D. L.; NURMELA, K. V. V. *Trans*-Octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.5, p.1251-1261, 1998.
- GRIINARI, J. M.; NURMELA, K.; DWYER, D. A.; BARBANO, D. M.; BAUMAN, D.E. Variation of milk fat concentration of conjugated linoleic acid and milk fat percentage is associated with a change in ruminal biohydrogenation. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.117-118, Suppl. 1, 1999.
- GRIINARI, J. M.; CORL, B. A.; LACY, S. H.; CHOUINARD, P. Y.; NURMELA, K. V. V.; BAUMAN, D. E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by  $\Delta^9$ -desaturase. **Journal of Nutrition**, v.130, p.2285-2291, 2000.
- GRUMMER, R. R.; CARROLL, D. J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v.69, p.3838-3852, 1991.
- HAGEMEISTER, H.; PRECHT, D.; FRANZENAND, M.; BARTH, C. A.  $\alpha$ -linolenic acid transfer into milk fat and its elongation by cows. **Fat Science Technology**, v.93, n.10, p.387-391, 1991.
- HARFOOT, C. G.; HAZLEWOOD, G. P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P. N. **The rumen microbial ecosystem**. New York: Elsevier, 1988. cap.9, p.285-322.
- IKWUEGBU, O. A.; SUTTON, J. D. The effect of varying the amount of linseed oil supplementation on rumen metabolism in sheep. **British Journal of Nutrition**, v.48, p.365-375, 1982.
- IP, C.; BANNI, S.; ANGIONI, E.; CARTA, G.; MCGINLEY, J.; THOMPSON, H. J.; BARBANO, D.; BAUMAN, D. Conjugated linoleic acid enriched butter fat mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. **Journal of Nutrition**, v.129, p.2135-2142, 1999.

- JENKINS, T. C. Lipid metabolism in the rumen. Symposium: Advances in ruminant lipid metabolism. **Journal of Dairy Science**, v.79, n.12, p.3851-3863, 1993.
- JENKINS, T. C. Fatty acid composition of milk from Holstein cows fed oleamide or canola oil. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.3, p.794-800, 1998.
- JENKINS, T. C.; BATEMAN, H.G.; BLOCK, S. M. Butylsoyamide increases unsaturation of fatty acids in plasma and milk of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.79, n.4, p.585-590, 1996.
- KALSCHEUR, K. F.; TETER, B. B.; PIPEROVA, L. S.; ERDMAN, R. A. Effect of fat source on duodenal flow of *trans*-C<sub>18:1</sub> fatty acids and milk fat production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.9, p.2115-2126, 1997a.
- KALSCHEUR, K. F.; TETER, B. B.; PIPEROVA, L. S.; ERDMAN, R. A. Effect of dietary forage concentration and buffer addition on duodenal flow of *trans*-C<sub>18:1</sub> fatty acids and milk fat production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.9, p.2104-2114, 1997b.
- KEADY, T. W.; MAYNE, C. S. The effect of level of fish oil inclusion in the diet on rumen digestion and fermentation parameters in cattle offered grass silage. **Livestock Production Science**, v.81, p.57-68, 1999.
- KELLY, M. L.; BERRY, J. R.; DWYER, D. A.; GRIINARI, J. M.; CHOUINARD, P. Y.; VAN AMBURGH, M. E.; BAUMAN, D. E. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk lactating dairy cows. **Journal of Nutrition**, v.128, p.881-885, 1998.
- KHORASANI, G. R.; KENNELLY, J. J. Effect of added dietary fat on performance, rumen characteristics and plasma metabolites of midlactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.9, p.2459-2468, 1998.
- KINSELLA, J. E.; LOKESH, B.; STONE, R. A. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. **American Journal Clinical Nutrition**, v.52, p.1-28, 1990.
- KLUSMEYER, T. H.; CLARK, J. H. Effect of fat and protein on fatty acid flow to the duodenum and in milk produced by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.9, p.3055-3067, 1991.
- LATHAM, M. J.; STORRY, J. E.; SHARPE, M. E. Effect of low roughage diets on the microflora and lipid metabolism in the rumen. **Applied Microbiology**, v. 24, p. 871-877, 1972.



- LICHTENSTEIN, A. H.; KENNEDY, E.; BARRIER, P.; DANFORD, D.; ERNST, N.; GRUNDY, S.; LEVEILLE, G.; VAN HORN, L.; WILLIAMS, C.; BOOTH, S. Dietary fat consumption and health. **Nutrition Reviews**, v.56, n.5, p.3-28, 1998.
- LOOR, J. J.; HERBEIN, J. H. Exogenous conjugated linoleic acid isomers reduce bovine milk fat concentration and yield by inhibiting de novo fatty acid synthesis. **Journal of Nutrition**, v.128, p.2411-2419, 1998.
- MATTOS, W.; PALMQUIST, D. L. Increased polyunsaturated fatty acids yields in milk of cows fed protected fat. **Journal of Dairy Science**, v. 57, p.1050-1054, 1974.
- MCGUIRE, M. A.; MCGUIRE, M. K. conjugated linoleic acid (CLA): a ruminant fatty acid with beneficial effects on human health. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.118, Suppl. 1, 1999.
- MURPHY, M.; AKERLIND, M.; HOLTENIUS, K. Rumen fermentation in lactating cows selected for milk fat content fed two forage to concentrate ratios with hay or silage. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.4, p.756-764, 2000.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington: National Academy of Science, 2001. 254 p.
- PALMQUIST, D. L. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.4, p.1354-1360, 1991.
- PALMQUIST, D. L. Why is it important know how feeding alters the fatty acid content of milk ? In: PROCEEDINGS TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, Ames, 1998. **Dairy Nutrition Conference**. Ames: The Ohio State University, 1998. p.65-78.
- PALMQUIST, D. L.; BEAULIEU, A. D. Feed and animal factors influencing milk fat composition. ASDA Foundation Symposium: Milk fat synthesis and modification. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.6, p.1753-1771, 1993.
- PALMQUIST, D.; CONRAD, H. Origin of plasma fatty acids in lactating cows fed high fat diets. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3152, 1971.
- PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v.63, n.1, p.1-14, 1980.
- PANTOJA, J.; FIRKINS, J. L.; ESATRIDGE, M. L.; HULL, B.L. Fatty acid digestion in lactating dairy cows fed fats varying in degree of saturation and different fiber sources. PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v.79, n.4, p.575-584, 1996.

- PIPEROVA, L. S.; TETER, B. B.; BRUCKENTAL, I.; SAMPUGNA, J.; MILLS, S.; YURAWECZ, M.; FRITSCH, J.; KU, K.; ERDMAN, R. Mammary lipogenic enzyme activity, *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat depressing diet. **Journal of Nutrition**, v.130, p.2568-2574, 2000.
- PIRES, A. V.; EASTRIDGE, M. L.; FIRKINS, J. L.; LIN, Y. C. Effects of heat treatment and physical processing of cottonseed on nutrient digestibility and production performance by lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.8, p.1685-1694, 1997.
- ROMERO, P.; RIZVI, S. H.; KELLY, M. L.; BAUMAN, D. E. Short communication: concentration of conjugated linoleic acid from milk fat with a continuous supercritical fluid processing system. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.1, p.20-22, 2000.
- 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, n.11, p.2609-2619, 2000.
- SAS INSTITUTE. **SAS users guide**: Statistics, Version 5. Cary, 1991. 1028p.
- SCOLLAN, N. D.; DHANOA, M. S.; CHOI, N. J.; MAENG, W. J.; ENSER, M.; WOOD, J. D. Biohydrogenation and digestion of long chain fatty acids in steers fed on different sources of lipid. **Journal of Agricultural Science**, v.136, p.345-355, 2001.
- SILVA, D. J. **Análises de alimentos**: métodos químicos e biológicos. Viçosa: Imprensa Universitária, 1981. 166p.
- SMITH, W. A. Fats for lactating dairy cows. In: CONGRESS OF THE SOUTH AFRICAN SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION, 29., Stellenbosch, 1990. **Animal production**. Stellenbosch: University of Stellenbosch, 1990. p.1-10.
- SOLOMON, R.; CHASE, L. E.; BEN-GHEDALIA, D.; BAUMAN, D. E. The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugated linoleic acid in the milk fat of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.6, p.1322-1329, 2000.
- SUTTON, J. D. Altering milk composition by feeding. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.10, p.2801-2814, 1989.

- TYMCHUK, S. M.; KHORASANI, G. R.; KENNELLY, J. J. Effect of feeding formaldehyde - and heat - treated oil sseed on milk yield and milk composition. **Canadian Journal of Animal Science**, v.78, p.693-700, 1998.
- VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, D. I. Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents in vitro. **Reproduction, Nutrition, Development**, v.36, p. 53-63, 1996a.
- VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, D. I. Effect of pH on biohydrogenation of polyunsaturated fatty acids and their ca-salts by rumen microorganisms *in vitro*. **Archives of Animal Nutrition**, v.49, p.151-157, 1996b.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3598, 1991.
- VAZQUEZ-AÑÓN, M.; BERTICS, S. J.; GRUMMER, R. The effect of dietary energy source during mid to late lactation on liver triglyceride and lactation performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.10, p.2504-2512, 1997.
- WONSIL, B. J.; HERBEIN, J. H.; WATKINS, B. A. Dietary and ruminally derived *trans*-C<sub>18:1</sub> fatty acids alter bovine milk lipids. **Journal of Nutrition**, v.124, p.556-565, 1994.
- WU, Z.; PALMQUIST, D. L. Synthesis and biohydrogenation of fatty acids by ruminal microorganism in vitro. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.9, p.3035-3046, 1991.
- WU, Z.; OHAJURUKA, O. A.; PALMQUIST, D. L. Ruminal synthesis, biohydrogenation and digestibility of fatty acids by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.9, p.3025-3034, 1991.
- WU, Z.; HUBER, J. T.; SLEIMAN, F. T.; SIMAS, J. M.; CHEN, K. H.; CHAN, S. C.; FONTES, C. Effect of three supplemental fat sources on lactation and digestion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.11, p.3562-3570, 1993.
- WU, Z.; HUBER, J. T.; CHAN, S. C.; SIMAS, J. M.; CHEN, K. H.; VARELA, J. G.; SANTOS, F.; FONTES, C.; YU, P. Effect of source and amount of supplemental fat on lactation and digestion in cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.6, p.1644-1651, 1994.

ZINN, R. A.; OWENS, F. N. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. **Canadian Journal of Animal Science**, v.66, p.157, 1986.

## APÊNDICE



Tabela 13. Efeito do nível de concentrado e adição de gordura na produção e composição do leite.

Parâmetros	Tratamentos <sup>1</sup>					Contrastes			
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	S	N	L	N x L
	<i>P</i> <sup>2</sup>								
Leite, Kg/d	22,99	22,05	21,47	23,30	23,18	0,70	0,80	0,94	0,43
Leite 3,5%, Kg/d	22,66	21,29	21,29	22,84	22,01	0,99	0,95	0,94	0,27
Gordura, %	3,49	3,30	3,50	3,44	3,20	0,14	0,38	0,59	0,66
Gordura, Kg/d	0,78	0,72	0,74	0,79	0,74	0,62	0,87	0,81	0,18
Proteína, %	3,17	3,15	3,10	3,23	3,06	0,04	0,19	0,89	0,13
Proteína, Kg/d	0,72	0,70	0,67	0,76	0,72	0,85	0,44	0,93	0,33
Lactose, %	4,54	4,54	4,62	4,57	4,59	0,66	0,66	0,30	0,58

<sup>1</sup> T1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, T2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, T3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, T4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e T5 - 60% de concentrado com óleo de soja

<sup>2</sup> Probabilidade de haver efeito significativo entre os tratamentos

Tabela 14. Efeito do nível de concentrado e adição de gordura sobre a concentração plasmática de AGL.

Parâmetro	Tratamentos <sup>1</sup>					Contrastes			
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	S	N	L	N X L
	<i>P</i> <sup>2</sup>								
AGL, µMl	91,82	69,52	95,53	84,95	77,50	0,23	0,02	0,12	0,33

<sup>1</sup> T1 - 40% de concentrado sem semente de linhaça, T2 - 60% de concentrado sem semente de linhaça, T3 - 40% de concentrado com semente de linhaça, T4 - 60% de concentrado com semente de linhaça e T5 - 60% de concentrado com óleo de soja

<sup>2</sup> Probabilidade de haver efeito significativo entre os tratamentos

