

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS NA
ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO SECO**

**Vitor Pereira Bettero
Zootecnista**

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS NA
ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO SECO**

Vitor Pereira Bettero

Orientador: Prof. Dr. Francisco Palma Rennó

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de
Jaboticabal, como parte das exigências para a
obtenção do título de Doutor em Zootecnia.**

2015

B565f Bettero, Vitor Pereira
Fontes de ácidos graxos insaturados na alimentação de vacas
leiteiras no período seco / Vitor Pereira Bettero. – – Jaboticabal, 2015
xix, 133 p. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015

Orientador: Francisco Palma Rennó

Banca examinadora: Arlindo Saran Neto, Alexandre Augusto de
Oliveira Gobesso, Mauro Dal Secco de Oliveira, Izabelle Auxiliadora
M. de Almeida Teixeira

Bibliografia

1. Bio-hidrogenação. 2. Dinâmica ruminal. 3. Fluxo abomasal. 4.
Gordura. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias.

CDU 636.084.5:636.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço
Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE JABOTICABAL
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

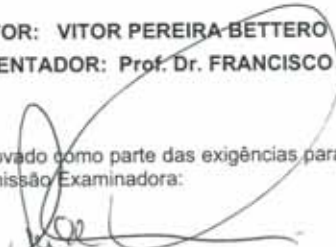
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS
LEITEIRAS NO PERÍODO SECO

AUTOR: VITOR PEREIRA BETTERO

ORIENTADOR: Prof. Dr. FRANCISCO PALMA RENNÓ

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, pela
Comissão Examinadora:


Prof. Dr. FRANCISCO PALMA RENNÓ
Universidade de São Paulo / Pirassununga/SP


Prof. Dr. ARLINDO SARAN NETTO
Universidade de São Paulo / Pirassununga/SP


Prof. Dr. ALEXANDRE AUGUSTO DE OLIVEIRA GOBESSO
Universidade de São Paulo / Pirassununga/SP


Prof. Dr. MAURO DAL SECCO DE OLIVEIRA
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Profa. Dra. IZABELLE AUXILIADORA M. DE ALMEIDA TEIXEIRA
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Data da realização: 26 de fevereiro de 2015.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Vitor Pereira Bettero - filho de Dayse dos Santos Pereira e Aroldo Bettero, nasceu em Vitória, no estado do Espírito Santo, em 31 de julho de 1986. Em março de 2004, iniciou na Universidade Federal de Viçosa (UFV) o curso de Graduação em Zootecnia, obtendo o título de Zootecnista em janeiro de 2009. Em março de 2009, ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia, na UFV, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Ruminantes, submetendo-se à defesa de dissertação em 28 de fevereiro de 2011. Nesse mesmo ano começou o doutorado na Universidade Estadual Paulista (UNESP) em Jaboticabal na mesma área. No período de agosto de 2013 a janeiro de 2014 realizou estágio no exterior sob orientação do Profº Lou Armentano na University of Wisconsin, em Madison-WI, EUA.

“Viver é enfrentar desafios. Quem nunca enfrentou desafios, apenas passou pela vida, não viveu. Sim, todo mundo quer uma vida tranquila e estável, mas não se consegue isso sem luta, esforço e muita coragem. E ninguém quer uma vida medíocre, sem sal nem açúcar. Definitivamente, isso não é coisa que engrandece a alma. Mas se quiseres seguir adiante com glória, tenha ciência de que às vezes é necessário mudar a estratégia do jogo radicalmente. Você poderá perder muitas peças e muitas batalhas no caminho. E não importa o quanto você sofra, o quanto você apanhe. Você precisa reunir suas forças e seguir em frente. Mesmo que tudo pareça perdido, não esqueça: na vida, assim como num jogo de Xadrez, enquanto você estiver de pé e lutando, nada estará perdido. Basta que você mantenha o Espírito e siga em frente”.

Augusto Branco

"Lembrar que estarei morto em breve é a ferramenta mais importante que já encontrei para me ajudar a tomar grandes decisões. Porque quase tudo - expectativas externas, orgulho, medo de passar vergonha ou falhar - caem diante da morte, deixando apenas o que é apenas importante. Não há razão para não seguir o seu coração".

Steve Jobs

DEDICO

A Deus, que com sua sabedoria nos criou e se faz presente em todos instantes em minha vida.

Aos meus avós Eliá Santos Pereira e Ignácio da Silva Pereira, minha eterna gratidão por todo o apoio e suporte mesmo durante todo esse tempo longe sem poder vê-los na frequência que eu gostaria

Ao meu pai, o maior incentivador dos meus estudos, pelo apoio e força sempre nas horas que mais precisei.

À minha mãe por acreditar em mim, pelo amor incondicional e pelas palavras sempre de força e coragem, que foram imprescindíveis para eu conseguir finalizar mais essa etapa da minha vida.

Ao meu irmão Igor que da sua maneira sempre esteve do meu lado e me ajudou em vários momentos, sem ele tudo seria mais difícil.

À minha prima Mariana, mesmo estando mais longe, sempre estive aqui torcendo para que você seja muito feliz.

A toda minha família, tias, tios, primos e primas por todas as formas de carinho e incentivo sempre que os encontro e por sempre torcerem pelo meu sucesso.

A todos os amigos de Vitória, Muqui, Viçosa, Jaboticabal, Pirassununga, Madison, que fiz por onde passei ao longo dessa grande jornada e que conviveram comigo durante esses anos todos, foram muitos momentos de felicidade e amizade, vocês fazem parte da minha história e sempre vou guardá-los no meu coração.

Sem todos vocês nada disso faria sentido!!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois sem ele nada disso seria possível, obrigado por não me abandonar mesmo nos momentos mais difíceis e quando os problemas pareciam ser maiores do que realmente eram.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, e ao Departamento de Zootecnia pela possibilidade de realização do curso de Doutorado;

À Universidade de São Paulo, a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, e ao Departamento de Nutrição e Produção Animal onde passei grande parte do doutorado, obrigado por me acolherem de forma tão receptiva.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudo e pela oportunidade de realizar o doutorado sanduíche.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela concessão de auxílio para o desenvolvimento desse estudo.

Ao Professor Francisco Rennó, pelo voto de confiança em me orientar, agradeço pela oportunidade de aprendizado, por proporcionar todas as condições necessárias para a realização deste trabalho e por ser um grande exemplo de pessoa que realmente é apaixonado pelo que faz, e sempre com o objetivo de melhorar cada vez mais, isso realmente me motiva a sempre buscar evoluir em todos os aspectos.

Ao Professor Mauro Dal Secco de Oliveira por estar sempre apto a ajudar em todos os momentos que precisei, com total atenção e dedicação.

Ao Professor Lou Armentano, por aceitar o meu pedido de doutorado sanduíche e por me proporcionar a maior experiência da minha vida pessoal e profissional, pelos ensinamentos, pelo exemplo de bom profissional e pessoa.

Aos Professores Alexandre Gobesso e Arlindo Saran Netto pelas contribuições e sugestões ao estudo.

À Coordenadora da Pós-graduação Prof^a Izabelle Teixeira, pela contribuição ao estudo e também por sempre estar à disposição para sanar dúvidas e resolver qualquer

problema que tive durante o doutorado e por trabalhar arduamente para que o Programa de Zootecnia da UNESP continue sendo referência no Brasil.

Ao meu amigo Rafael Barletta (Bisão), que além de estar presente em todas as etapas da execução desse trabalho, também foi um irmão que fiz em Pirassununga, me ajudando em todos os momentos que precisei e sempre estando do meu lado, até nos Estados Unidos, com certeza sem você tudo seria mais difícil e menos divertido também.

A todos que estiveram diretamente comigo durante o experimento e/ou nas análises laboratoriais e que foram imprescindíveis para a conclusão desse estudo: Gustavo Almeida, Tiago Del Valle, Jefferson Gandra, Rodolfo Mingoti, José Esler, Filipe Zanferari, Lenita Camargo. Obrigado pela ajuda e amizade.

Gostaria de agradecer em especial à Cybele e ao Elmeson (Mineiro) que foram meus braços direito e esquerdo durante todo o experimento, pessoas que eu podia confiar e que me entendiam mesmo quando eu tava mal-humorado, muito obrigado pela amizade e quero levá-los comigo pra sempre.

A todos os demais colegas e principalmente amigos do Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite (LPBL), que sem dúvida foi a melhor equipe que eu já trabalhei: Pablo Paiva, Gustavo Calomeni, Rodrigo Gardinal, Thiago da Silva (Pira), Guilherme.

A todos os estagiários e alunos de iniciação científica que me ajudaram na execução e nas análises laboratoriais: Thiago Vendramini (Catimbó), Caio (Bumba), Natasha (Remenda), Arthur (Faverolles), Victor (Matraca), Mariana (Mel), Marjorye (Cala), Raquel, Dado, Karen (Japa), Bruna (Baranga), Vanessa (Finfa), Karla (Pink), Thaila (Coisa), Léa, Julia. Obrigado pela ajuda, pela amizade, e principalmente pela paciência, pois sei que não era fácil me aguentar em alguns momentos.

A todos os amigos que fiz ao longo do doutorado, seja da UNESP Jaboticabal, FMVZ-USP, FZEA-USP, University of Wisconsin, vou levá-los sempre no meu coração.

A todos os antigos e atuais funcionários Nathalia Trevisan, Paulo, Lucas, Schimit, Dona Dalva, Lenon, Lupércio (Toco), João (Jota), e em especial ao Tio Carlão (*in memoriam*) exemplo de bondade e disposição, e ao Diogo que sempre me salvou

quando eu precisava de qualquer coisa. Muito obrigado, vocês foram fundamentais para a condução desse estudo.

Ao Ari, Gilson e Simi funcionários do Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP, pelo auxílio na realização das análises laboratoriais.

Aos funcionários da Fábrica de Ração da PCAPS, especialmente o Seu Cláudio de Jesus e Israel Andrietta que sempre estavam dispostos a ajudar, mesmo quando imprevistos apareciam.

A todos os funcionários da secretaria de Pós-graduação da UNESP pelo apoio e atenção dispensadas ao longo de todo o meu doutorado.

À minha cachorrinha Teca, melhor coisa que me aconteceu no último ano de doutorado, sempre dando carinho e amor sem querer nada em troca.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação da Biohidrogenação ruminal e fluxo intestinal de ácidos graxos em vacas leiteiras suplementadas com diferentes fontes de gordura dietética", protocolado sob o nº1603/2009, utilizando 12 (doze) bovinos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Francisco Palma Rennó, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 20/05/09.

We certify that the Research "Evaluation of ruminal biohydrogenation and intestinal flow of fatty acids in dairy cows fed with different fat sources", utilizing 12 (twelve) bovine, protocol number 1603/2009, under the Prof. Dr. Francisco Palma Rennó, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 05/20/09.

São Paulo, 21 de maio de 2009

Profa Dra Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP



Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº87
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
São Paulo/SP – Brasil
05508-270

Fax: +55 11 3032-2224 / 3091-7757
fone: + 55 11 3091-7671/7676
E-mail: fmvz@usp.br
<http://www.fmvz.usp.br>

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE FIGURAS	xv
LISTA DE ABREVIações E SIGLAS	xvi
RESUMO.....	xviii
SUMMARY.....	xx
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 Implicações do uso de lipídios em ruminantes	4
2.2 Digestão e metabolismo ruminal de lipídios.....	15
2.3 Bio-hidrogenação e fluxo intestinal de ácidos graxos.....	18
2.4 Fontes de ácidos graxos para ruminantes.....	25
2.4.1 Óleo de soja	25
2.4.2. Grão de soja.....	27
2.4.3. Sais de cálcio de ácidos graxos	30
3. MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1 Local, instalações e animais	33
3.2 Dietas experimentais e análise de alimentos.....	34
3.3 Digestibilidade aparente total	39
3.4 Fermentação ruminal	40
3.5 Síntese de proteína microbiana	41
3.6 Taxa de passagem de líquido e dinâmica ruminal	42
3.7 Balanço de energia.....	44
3.8 Balanço de nitrogênio.....	45

3.9. Bio-hidrogenação ruminal e fluxo abomasal de ácidos graxos	46
3.10. Perfil de ácidos graxos	48
3.11. Avaliação do escore de condição corporal e peso corporal	48
3.12. Metabólitos sanguíneos.....	49
3.13. Análises estatísticas	50
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4.1 Consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes.....	51
4.2 Fermentação ruminal	61
4.3 Síntese de proteína microbiana	73
4.4 Balanço de energia.....	75
4.5 Balanço de nitrogênio.....	78
4.6 Parâmetros sanguíneos.....	79
4.7 Cinética ruminal	84
4.8 Bio-hidrogenação ruminal e fluxo abomasal de ácidos graxos.....	92
5. CONCLUSÕES	97
6. IMPLICAÇÕES	97
7. REFERÊNCIAS.....	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química, nutrientes digestíveis totais (NDT); energia líquida de lactação (EL _L), e energia bruta (EB), obtidos para os ingredientes	35
Tabela 2 – Composição de ácidos graxos dos ingredientes (g/100g de ácidos graxos)	36
Tabela 3 – Composição químico-bromatológica dos concentrados experimentais	37
Tabela 4 – Composição químico-bromatológica e composição de ácidos graxos das dietas experimentais.....	35
Tabela 5 – Consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes em função das dietas experimentais.....	52
Tabela 6 – Efeito das dietas sobre os parâmetros de fermentação ruminal	62
Tabela 7 – Síntese de proteína microbiana de acordo com as dietas experimentais	74
Tabela 8 – Balanço de energia de acordo com as dietas experimentais	77
Tabela 9 – Balanço de nitrogênio de acordo com as dietas experimentais.....	78
Tabela 10 - Metabólitos sanguíneos de acordo com as dietas experimentais	82
Tabela 11 - Efeitos da suplementação dietética de ácidos graxos na dinâmica ruminal	85
Tabela 12 – Concentração de nutrientes na cinética de digestão ruminal.....	87
Tabela 13 – Concentrações de FDN e cinética de digestão ruminal.....	90
Tabela 14 – Consumo, fluxo abomasal, composição de ácidos graxos no abomaso e bio-hidrogenação ruminal de vacas leiteiras alimentadas com dietas contendo diferentes fontes lipídicas	93

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - pH ruminal em diferentes tempos após o fornecimento da alimentação matinal de vacas da raça Holandesa, alimentadas com dietas contendo ou não suplementos lipídicos.....65**
- Figura 2 - Concentrações ruminais de NH_3 em diferentes tempos após o fornecimento da alimentação matinal de vacas da raça Holandesa, alimentadas com dietas contendo ou não suplementos lipídicos66**
- Figura 3 - Concentrações ruminais de acetato em diferentes tempos após o fornecimento da alimentação matinal de vacas da raça Holandesa, alimentadas com dietas contendo ou não suplementos lipídicos65**
- Figura 4 - Concentrações ruminais de propionato em diferentes tempos após o fornecimento da alimentação matinal de vacas da raça Holandesa, alimentadas com dietas contendo ou não suplementos lipídicos67**
- Figura 5 - Concentrações ruminais de butirato em diferentes tempos após o fornecimento da alimentação matinal de vacas da raça Holandesa, alimentadas com dietas contendo ou não suplementos lipídicos63**
- Figura 6 - Concentrações ruminais de ácidos graxos de cadeia curta em diferentes tempos após o fornecimento da alimentação matinal de vacas da raça Holandesa, alimentadas com dietas contendo ou não suplementos lipídicos.....64**

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

AG	Ácidos Graxos
AGCC	Ácidos Graxos de Cadeia Curta
AGCL	Ácidos Graxos de Cadeia Longa
AGCM	Ácidos Graxos de Cadeia Média
AGS	Ácidos Graxos Saturados
AGNE	Ácidos Graxos Não Esterificados
AGPI	Ácidos Graxos Poliinsaturados
AGI	Ácidos Graxos Insaturados
AGT	Ácidos Graxos Trans
AGV	Ácidos Graxos Voláteis
AST	Aspartato Aminotransferase
BH	Bio-hidrogenação
C	Controle
C1	Contraste 1 " C vs OS, GS e SC"
C2	Contraste 2 " OS vs GS e SC"
C3	Contraste 3 " GS vs SC"
CCK	Colecistoquinina
CD	Coeficiente de Digestibilidade
CDMS	Coeficiente de Digestibilidade da Matéria Seca
CDMO	Coeficiente de Digestibilidade da Matéria Orgânica
CED	Consumo de Energia Digestível
CEL	Consumo de Energia Líquida
CLA	Ácido Linoleico Conjugado
CMS	Consumo de Matéria Seca
CNF	Carboidratos Não Fibrosos
CT	Carboidratos Totais
DP	Derivados de Purina
EB	Energia Bruta
ECC	Escore de Condição Corporal
ED	Energia Digestível
EE	Extrato Etéreo
EL	Energia Líquida
ELp	Energia Líquida de Produção
ELg	Energia Líquida de Ganho
EM	Energia Metabolizável
ESPM	Eficiência de Síntese de Proteína Microbiana
FDA	Fibra em Detergente Ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
FDNi	Fibra em Detergente Neutro Indigestível

FDNpd	Fibra em Detergente Neutro Potencialmente Digestível
GGT	Gama Glutamyltransferase
GS	Grão de Soja
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
MN	Matéria Natural
MO	Matéria Orgânica
MS	Matéria Seca
N	Nitrogênio
NAR	Nitrogênio Amoniacal Ruminal
NDT	Nutrientes Digestíveis Totais
Nmic	Nitrogênio Microbiano
N-NH ₃	Nitrogênio Amoniacal
OS	Óleo de Soja
Pabs	Purinas Absorvíveis
PB	Proteína Bruta
PC	Peso Corporal
PDR	Proteína Degradável no Rúmen
PGF2 α	Prostaglandina
pH	Potencial Hidrogeniônico
PNDR	Proteína Não Degradável no Rúmen
SC	Sais de Cálcio
TAG	Triacil Glicerol

FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO SECO

RESUMO – O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos de fontes de ácidos graxos insaturados para vacas leiteiras no período seco sobre a dinâmica e bio-hidrogenação ruminais e fluxo intestinal de ácidos graxos. Foram utilizadas 8 vacas secas da raça Holandesa, canuladas no rúmen e abomaso (614 ± 59 kg de peso corporal; média $\pm$ dp), agrupadas em dois quadrados latinos 4×4 contemporâneos e balanceados, alimentadas com as seguintes dietas: 1) controle (C), dieta a base de milho e farelo de soja; 2) óleo de soja refinado (OS) com inclusão de 3,0% na MS total; 3) Grão de soja cru e integral (GS), com inclusão de 16,0% na MS total; e 4) Sais de cálcio de ácidos graxos insaturados (SC), com inclusão de 3,2% na MS total. Os consumos de MS, MO, PB, FDN e NDT não diferiram ($P>0,05$) entre tratamentos. Dietas com fontes lipídicas tiveram maior consumo de EE (0,72 vs 0,30 kg/dia) e menor consumo de CNF (3,91 vs 4,40 kg/dia) quando comparadas ao controle. As digestibilidades da MS, MO E FDN foram maiores ($P<0,05$) no tratamento controle em relação aos tratamentos com adição lipídica. Já em relação ao EE, a digestibilidade da dieta C foi menor ($P<0,001$) que nos demais tratamentos (84,88% vs 86,93%) . A concentração de N-NH₃ foi maior ($P<0,05$) para os animais que receberam a dieta C em relação às dietas com inclusão de lipídios (20,39 vs 17,49 mg/dL). A dieta C apresentou as menores concentrações de propionato ($P=0,001$) em relação às fontes lipídicas. Já a dieta OS apresentou maiores concentrações de propionato ($P<0,05$) em relação às dietas GS e SC. A relação acetato:propionato (C2/C3) foi maior ($P<0,05$) na dieta controle (4,13) do que nas dietas com suplementação (3,81). A síntese de proteína microbiana e os balanços de energia e nitrogênio não foram influenciados pelas dietas experimentais. Animais que receberam dietas com suplementação lipídica apresentaram maiores valores de colesterol total e colesterol HDL no sangue ($P<0,05$). A dieta OS teve menores taxas de digestão ruminal ($P<0,05$) para MS, FDN e FDNpd quando comparadas com GS e SC. A dieta GS teve menores taxas de passagem ($P<0,05$) da MS, FDN e FDNpd em relação à dieta com SC (2,38%/h; 1,65%/h; 1,42%/h vs 2,91%/h; 1,96%/h; 2,09%/h,

respectivamente). A digestibilidade ruminal da FDN em kg/dia e em porcentagem foram maiores ($P<0,05$) para GS do que para SC (2,83 kg/dia e 51,38% vs 2,48kg/dia e 44,50%, respectivamente). O consumo e o fluxo totais de AG foram maiores ($P<0,05$) em dietas com lipídios. As taxas de bio-hidrogenação dos ácido graxos C18:1 *cis* e C18:3 não foram diferentes estatisticamente entre as dietas ($P>0,05$), independentemente do tratamento avaliado, e na média geral 98,97 % e 88,99 % desses ácidos graxos, respectivamente, foram bio-hidrogenados no rúmen. A taxa de bio-hidrogenação do C18:2 na dieta OS foi maior ($P<0,05$) quando comparada às fontes protegidas (98,43 % vs 96,85%). O grão de soja mostra-se uma alternativa viável como fonte lipídica protegida para utilização em vacas no período seco, quando há o intuito de aumentar o aporte de ácidos graxos insaturados no intestino, principalmente 18:2, sem haver, contudo, prejuízo na digestibilidade ruminal da fibra.

Palavras chave: bio-hidrogenação, dinâmica ruminal, fluxo abomasal, gordura.

UNSATURATED FATTY ACIDS SOURCES IN DAIRY COWS DIETS DURING DRY PERIOD

SUMMARY – The objective of this study was to evaluate the effects of sources of unsaturated fatty acids to dairy cows in the dry period on the ruminal dynamic and biohydrogenation and intestinal flow of fatty acids. Eight Holstein dry cows cannulated in the rumen and abomasum (614 ± 59 kg of body weight; mean $\pm$ SD), were assigned randomly in two contemporary and balanced 4×4 Latin squares, fed the following diets: 1) control (C) diet based on corn and soybean meal; 2) refined soybean oil (SO) with addition of 3.0% on total DM 3) Whole soybean raw (WS), with the inclusion of 16.0% on total DM; and 4) calcium salts of unsaturated fatty acids (CS), with the inclusion of 3.2% on total DM. The DM, OM, CP, NDF and TDN intakes did not differ ($P > 0.05$) between treatments. Diets with fat sources had higher intake of EE (0.72 vs 0.30 kg/day) and lower intake of NFC (3.91 vs 4.40 kg/day) when compared to control. The digestibilities of DM, OM and NDF were higher ($P < 0.05$) in treatment C compared to treatments with lipid addition. In relation to EE, the digestibility of C diet was lower than in other treatments (84.88% vs 86.93%). The concentration of $\text{NH}_3\text{-N}$ was higher ($P < 0.05$) in animals fed C diet than the diets with lipids inclusion (20.39 vs. 17.49 mg/dL). The C diet had the lowest propionate concentration in relation to lipid sources. The SO diet had higher propionate concentrations ($P < 0.05$) compared to WS and CS diets. The acetate: propionate ratio (C2/C3) was higher ($P < 0.05$) in the control diet (4.13) than the diets with supplementation (3.81). The microbial protein synthesis and energy and nitrogen balances were not affected by diets. Animals fed diets with fat supplements had higher total cholesterol and HDL cholesterol in the blood ($P < 0.05$). The SO diet had lower ruminal digestion rates ($P < 0.05$) for DM, NDF and pdNDF compared to WS and CS. WS diet had lower passage rates of DM, NDF and pdNDF ($P < 0.05$) in relation to CS diet (2.38%/h; 1.65%/h; 1.42%/h vs. 2.91%/h; 1.96%/h; 2.09%/h, respectively). The ruminal digestibility of NDF in kg/day and percentage were higher ($P < 0.05$) for WS than for CS (2.83 kg/day and 51.38% vs 2.48kg/day and 44.50%, respectively). The total consumption and total flow of FA were higher ($P < 0.05$) in diets with lipid.

Biohydrogenation rates of *cis* C18:1 and C18:3 fatty acids were not statistically different between diets ($P > 0.05$), regardless of treatment evaluated, and the overall average 98.97% and 88.99% of these fatty acids, respectively, were biohydrogenated in the rumen. The C18:2 biohydrogenation rate in SO diet was higher ($P < 0.05$) as compared to protected sources (98.43% vs. 96.85%). The whole soybean raw is shown as a viable alternative of protected lipid source for use in cows during the dry period, when there is the intention to increase the quantity of unsaturated fatty acids in the intestine, with no loss in ruminal fiber digestibility.

Key words: abomasal flow, biohydrogenation, fat, ruminal dynamic.

1. INTRODUÇÃO

Durante a última década, os efeitos positivos que a suplementação lipídica pode exercer sobre o desempenho animal e a qualidade dos produtos derivados de ruminantes para consumo humano tem levado a um ressurgimento do interesse em suplementar lipídios (SCHMIDELY et al., 2008).

Dentre as possibilidades de incrementar a ingestão de energia via lipídios, destaca-se a inclusão das gorduras animais, que atualmente tem seu uso proibido em função da Instrução Normativa nº 8 (MAPA, 2004), ou óleos vegetais, fornecidos sob formas menos reativas no ecossistema ruminal (protegidas) ou sob formas encontradas na natureza, portanto, mais reativas no rúmen-retículo (DOREAU; FERLAY, 1994).

A utilização dietética de fontes lipídicas ricas em ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), conseguido através de sementes de oleaginosas e óleos vegetais pode promover uma grande quantidade de intermediários na bio-hidrogenação ruminal, principalmente de ácidos graxos insaturados (AGI) e que apresentam propriedades físicas benéficas à saúde (OLDICK et al., 2000). Porém os ácidos graxos insaturados podem inibir os micro-organismos ruminais e diminuir a digestão da fibra (JENKINS, 1993; PANTOJA et al., 1994). A extensão dos efeitos adversos depende da fonte escolhida, o nível de inclusão e a quantidade de fibra na dieta. No entanto, lipídios em sementes oleaginosas são mais inertes no rúmen quando fornecidos integralmente em comparação às sementes trituradas ou óleos livres (MOHAMED et al., 1988; ALDRICH et al., 1997), aparentemente por causa da liberação lenta do óleo a partir de sementes inteiras (MOHAMED et al., 1988; REDDY et al., 1994).

Como opção de alimentação com dietas ricas em lipídios, as sementes oleaginosas ricas em ácidos graxos, como o grão de soja, destacam-se pelo preço e pela palatabilidade (MORA, 1995). Considera-se que resultados obtidos com grão de soja cru são semelhantes ou bem próximos quando comparados aos de processos de aquecimento, extrusão ou esfarelamento (EARLEYWINE, 1989). Quanto ao custo, isso

poderia acarretar vantagem econômica, pois em regiões produtoras brasileiras, na maioria das vezes, o preço do grão de soja é menor que o do farelo de soja.

É geralmente aceito que o manejo nutricional de vacas no período seco afeta o estado metabólico na lactação subsequente, e que a maioria das vacas leiteiras mobilizam reservas corporais no início da lactação (ANDERSEN et al., 2008). Há alguns anos apresentou-se a ideia de que a alimentação de uma dieta rica em lipídios durante o período seco poderia adaptar a vaca para a mobilização de gordura corporal no início da lactação seguinte (FRIGGENS et al., 2004). Esta estratégia baseia-se no princípio de que a alimentação com uma ração rica em gordura durante o período seco pode aumentar as concentrações circulantes de ácidos graxos não esterificados (AGNE), aumentando, assim, a captação de ácidos graxos para o fígado para pré-adaptação do metabolismo hepático de ácido graxo de cadeia longa (AGCL). Grum et al. (1996b) demonstraram que vacas secas alimentadas com uma quantidade relativamente grande de lipídios (alto teor de ácido palmítico e ácido oleico) tinham ligeiramente uma maior capacidade de β -oxidação de AGCL no fígado, e menor concentração de triacilglicerol no fígado (TAG) no início da lactação subsequente.

Além disso, o ácido linoleico (C18:2n-6) é um ácido graxo (AG) essencial para uma função reprodutiva normal de mamíferos (BURR; BURR, 1930). Oldick et al. (2000) demonstraram o potencial de ácidos graxos insaturados adicionais na dieta de vacas leiteiras para diminuir a síntese de prostaglandina (PGF₂ α), o que é necessário para manter a gestação (BEAM et al., 2000). Estes mesmos ácidos graxos parecem atuar como mediadores de reações do sistema imune (SILVESTRE et al. 2011), atuando na síntese, expressão e quimiotaxia de moléculas que aumentam a atividade e poder de fagocitose de leucócitos, monócitos/macrófagos e neutrófilos (GANDRA, 2012). De acordo com Garcia et al. (2014), as concentrações séricas e a eficiência aparente de absorção de imunoglobulinas tenderam a ser aumentadas em bezerros nascidos de vacas alimentadas com gordura em comparação com aqueles alimentados sem gordura.

O fornecimento de dietas suplementadas com gorduras pode constituir uma oportunidade para manipular a saúde e o desempenho de vacas leiteiras, no entanto,

os efeitos relativos de lipídios específicos, tais como os ácidos graxos trans (AGT), ainda não são totalmente compreendidos (WATTS et al., 2013). Além disso, uma maior proporção de AGI pode ter a vantagem adicional de aumentar a digestibilidade intestinal e total de AG. Assim, o estudo do fluxo pós-ruminal de AG se torna cada vez mais essencial para que sejam entendidos os processos e as perdas pelos quais os AG da dieta podem passar até serem absorvidos (FREITAS JR., 2012).

Além da composição lipídica da dieta, outras características da dieta e os vários componentes do ecossistema ruminal influenciam a extensão da bio-hidrogenação (BH), incluindo o conteúdo de fibras (ou forragem) da dieta e o pH do rúmen (GLASSER et al., 2008). A capacidade de suplementação lipídica em influenciar a bio-hidrogenação varia de acordo com a composição da dieta basal, a forma física do suplemento e a taxa de inclusão (LOURENÇO; RAMOS-MORALES; WALLACE, 2010). Os efeitos negativos dos AGI na digestão ruminal tendem a ser minimizados se a dieta contém uma elevada proporção de forragem, por causa da capacidade da mesma em promover a função ruminal normal para a máxima bio-hidrogenação (PALMQUIST, 1988), característica comumente encontrada nas dietas de vacas secas. A proporção de volumoso:concentrado na dieta, bem como o tipo e estado físico da forragem fornecida aos animais influencia o metabolismo lipídico ruminal (FRENCH et al., 2000).

Por meio da quantificação do fluxo intestinal de ácidos graxos, podem-se definir estratégias nutricionais para aumentar a absorção intestinal de ácidos graxos insaturados, especialmente o ômega-6 e, em menor extensão pelas fontes de gordura contendo ômega-3. O benefício deste conhecimento resultará na possibilidade de definir estratégias de utilização de fontes de gordura com enfoque em vacas secas, especialmente pré-parto ou em transição, para que sejam obtidos benefícios da suplementação com ácidos graxos sob a saúde animal, funcionamento do sistema imune e otimização do desempenho reprodutivo. Entretanto, para realmente explorar esses benefícios, deve-se caracterizar as condições ruminiais de taxa de passagem e de digestão, que interferem amplamente no processo de bio-hidrogenação de ácidos graxos. Também, deve-se caracterizar adequadamente todos os aspectos relacionados

à digestão e metabolismo do animal, pois qualquer alteração desses parâmetros deve ser monitorada.

Dessa forma, a hipótese científica a ser avaliada neste trabalho é que a suplementação com ácidos graxos insaturados aumenta a extensão da bio-hidrogenação ruminal e o fluxo intestinal de ácidos graxos, principalmente insaturados, sem alterar o consumo e digestibilidade da matéria seca e de nutrientes, a fermentação e a dinâmica ruminal e o balanço de nutrientes em vacas secas.

Dada a importância dos AG absorvidos para a saúde e desempenho animal, especificamente em relação à vacas leiteiras, objetivou-se avaliar os efeitos de diferentes fontes de lipídios suplementares (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio), ricas em ácido linoleico, na alimentação de vacas leiteiras no período seco sobre a dinâmica e bio-hidrogenação ruminais e fluxo intestinal de ácidos graxos. Além disso, foram determinados os seguintes parâmetros: fermentação e síntese de proteína microbiana ruminal, consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes, concentrações de parâmetros sanguíneos, perfil de ácidos graxos da digesta abomasal, e os balanços de energia e de nitrogênio.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Implicações do uso de lipídios em ruminantes

Lipídios costumam ser usados em dietas de ruminantes primeiramente como fontes de energia, pois possuem alta eficiência metabólica por serem extremamente ricos em energia (9,4 Kcal/g), sendo recomendados para aumentar a densidade energética das dietas e, conseqüentemente, evitar os efeitos prejudiciais de altas quantidades de concentrados ricos em amido sobre o ambiente ruminal, principalmente em vacas em lactação (DOREAU; CHILLIARD, 1997), além disso, os lipídios tem a capacidade de aumentar a absorção de vitaminas lipossolúveis e fornecer ácidos graxos essenciais importantes na composição de membranas de tecidos e principalmente, atuar como precursores para a regulação do metabolismo (PALMQUIST; MATTOS, 2006).

A influência desta fonte de nutrientes sobre o metabolismo do animal depende da digestibilidade da fonte utilizada e dos efeitos da adição da gordura sobre o consumo, fermentação ruminal e da digestibilidade dos outros componentes da dieta (DEPETERS; CANT, 1992; CHILLIARD, 1993). O fornecimento de lipídios para ruminantes também pode reduzir a produção de metano e consequentemente a perda de energia pelo animal, pois para os lipídios na forma de ácidos graxos insaturados sofrerem bio-hidrogenação no rúmen, é preciso haver a incorporação de H^+ no meio, e com isso, há menos H^+ disponível para a metanogênese (ZINN; PLASCENCIA, 1996).

Alguns ácidos graxos são considerados essenciais para os mamíferos, porque as células não têm condições de sintetizá-los. A essencialidade de alguns ácidos graxos foi descrita pela primeira vez em uma série de artigos publicados no final de 1920 até o início da década de 30 (BURR; BURR, 1930). Os autores identificaram o ácido linoleico (C18:2 n6) e ácido linolênico (18:3 n3) como dois ácidos graxos essenciais para o crescimento, saúde da pele e desempenho reprodutivo em ratos. Desde então, vários estudos têm demonstrado a importância de AG como precursores de várias moléculas, influenciando diretamente a função celular, demonstrando o efeito calórico e nutracêutico de fontes de gordura.

De acordo com Silvestre et al. (2011), as prostaglandinas são derivadas a partir de reservas de fosfolípidos da membrana de ácido araquidônico (C20:4 n-6), que são sintetizados a partir do ácido linoleico dietético essencial de ácido graxo (C18:2 n-6). Ovelhas no pré-parto suplementadas com uma dieta enriquecida com ácido linoleico tiveram aumento nas proporções de ácido araquidônico no endométrio e na membrana corioalantóide, e aumento da secreção de PGF2 α em explantes placentários cultivados (ELMES et al., 2004). Hess, Moss e Rule (2008) sugerem que muitas evidências tem se acumulado sobre o uso de gordura na dieta como um nutracêutico para influenciar positivamente os eventos reprodutivos em vacas de corte (WILLIAMS; STANKO, 2000). Gandra (2012) usou fontes de ácidos graxos ômega-3 (ω 3) e ômega-6 (ω 6) para vacas leiteiras no pré-parto e pós-parto imediato e concluiu que as mesmas influenciaram positivamente de maneira preponderante o sistema imune de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação.

Além disso, os produtos provenientes de ruminantes também contêm os ácidos linoleicos conjugados (CLA), promotores em potencial da saúde, principalmente o cis-9, trans-11-CLA (JENKINS; BRIDGES, 2007). Tem sido demonstrado em vários estudos com animais que o CLA dietético contribui para a prevenção do câncer, redução da aterosclerose, a melhoria da resposta imune, e alteração no metabolismo de proteína ou energético (PALMQUIST et al., 2005). O CLA está presente em concentrações mais elevadas em produtos de ruminantes do que em carnes de não ruminantes correspondentes ou em óleos vegetais (CHIN et al., 1992), porque eles são formados no rúmen a partir do ácido linoleico dietético. O perfil de AG absorvidos no duodeno pode alterar o perfil de ácidos graxos de produtos de origem animal, especialmente modificando a saturação do AG e a concentração de CLA (GRUMMER, 1991; MANSBRIDGE; BLAKE, 1997).

Segundo Grummer (1995), uma fonte lipídica considerada ideal exerce mínima interferência sobre a ingestão de matéria seca, fermentação ruminal e possui alta digestibilidade no intestino delgado. A adição desse suplemento nas suas mais diversas formas não protegidas, provocam decréscimo na digestibilidade da fração fibrosa da dieta e alterações profundas no metabolismo ruminal, pois inibe a atividade microbiana no rúmen se usada em quantidades elevadas (PALMQUIST, 1989).

A utilização de lipídios em excesso na dieta de ruminantes, sobretudo os que contêm elevado teor de AGI, pode reduzir o consumo, prejudicar a fermentação, além de inibir o crescimento microbiano ruminal (KOZLOSKI, 2002). De acordo com Byers e Schelling (1989) e Kozloski (2002) tal inibição pode ser em razão de um efeito de recobrimento da fibra pela gordura, impedindo a aderência bacteriana e o acesso das enzimas fibrolíticas ao seu substrato, ou ainda a um efeito tóxico dos ácidos graxos insaturados sobre as células bacterianas. Segundo Kozloski (2002) o efeito tóxico pode ser devido a possível alteração na composição lipídica e das propriedades físico-químicas das membranas celulares dos micro-organismos. O mecanismo de como lipídios interferem na fermentação ruminal é um modelo complexo envolvendo particionamento de lipídio na membrana da célula microbiana, o potencial do lipídio de romper a membrana e a função celular, a ligação física das células microbianas com a

superfície das plantas, e a expressão e a atividade de enzimas hidrolíticas microbianas (JENKINS, 1993).

Nesse contexto, Czerkowsky, Blaxter e Wainman (1966) citam que níveis maiores que 7% de gordura interferem negativamente na fermentação ruminal, já Palmquist e Jenkins (1980) afirmam que pode haver problemas no metabolismo ruminal dos carboidratos estruturais a partir de 6% de lipídio na MS da dieta. Uma alternativa para se reduzir os problemas metabólicos dos alimentos ricos em gordura seria o fornecimento de gordura protegida da bio-hidrogenação ruminal, que não influenciaria o processo digestivo ruminal, sendo dissolvida e absorvida no intestino delgado (AFERRI et al., 2005). Byers e Schelling (1989) afirmaram que se a fonte lipídica utilizada na ração estiver protegida, pode-se reduzir os efeitos maléficos sobre a fermentação ruminal, devido a menor disponibilidade dos lipídios no ambiente ruminal.

Embora suplementos de AG sejam muitas vezes utilizados para aumentar a densidade de energia da dieta, a sua eficácia depende da digestibilidade dos AG adicionados e o seu efeito sobre a digestibilidade dos outros nutrientes. Efeitos associativos de AG podem mudar o local da digestão de nutrientes do rúmen para o intestino, possivelmente reduzindo a digestibilidade da dieta (HARVATINE; ALLEN, 2006c).

Desta forma, a relação entre a adição de gordura e o desempenho das vacas leiteiras é muito variável em razão da influência da fonte de gordura utilizada, método de processamento, quantidade de gordura e estágio de lactação do animal (PALMQUIST; JENKINS, 1980).

A adição de gordura para vacas leiteiras afeta a digestão ruminal da fibra e a taxa de passagem, o que poderia afetar o tamanho do pool de digesta ruminal e a atividade de mastigação (HARVATINE; ALLEN, 2005). Efeitos das fontes de gordura no comportamento mastigatório não têm sido extensivamente estudados (KARGAR et al. 2010). Por outro lado, a suplementação com gordura insaturada pode reduzir o consumo por meio da produção de AG, que atuam como um sinal fisiológico para diminuir o volume da refeição ou aumentar o intervalo entre refeições (HARVATINE; ALLEN, 2006b). Aumento da proporção de ácidos graxos insaturados na gordura

suplementar aumentou efeitos hipofágicos da gordura (JENKINS; JENNY, 1989; PANTOJA et al., 1994). Infusão abomasal de AG insaturados (DRACKLEY et al., 1992) e mesmo AG na dieta que são modificados para prevenir os efeitos negativos sobre a fermentação no rúmen (SCHAUFF; CLARK, 1992b) têm sido mostrados para suprimir a ingestão de alimentos em vacas lactantes.

As alterações no consumo de matéria seca podem ser observadas principalmente quando é iniciada a suplementação lipídica, em razão da fonte de gordura utilizada muitas vezes não serem bem caracterizadas, ou seja, não se sabe totalmente sua composição ou quando somente a silagem de milho é usada como volumoso padrão (ONETTI et al., 2001), pois os lipídios são degradados dentro da parede celular microbiana, ou seja, o grau de maturação da forragem e o conteúdo de nitrogênio da dieta influenciam diretamente a taxa de passagem e a taxa de digestão do alimento, além de alterar a disponibilidade de substratos necessários para a sincronia do metabolismo e desenvolvimento da população de bactérias ruminais (JENKINS, 1993).

Os efeitos no consumo de MS com a inclusão de lipídios na dieta pode ser atribuído ao aumento da concentração sérica de ácidos graxos insaturados que ativam receptores do centro da saciedade localizados no hipotálamo, inibindo o apetite e reduzindo o consumo. Deste modo, fontes que contêm maiores concentrações de AG insaturados seriam mais prejudiciais ao consumo enquanto fontes mais saturadas causariam menos efeitos (ALLEN, 2000).

Em geral, a adição de lípidos nas dietas de ruminantes está relacionada com a diminuição da contagem de protozoários do rúmen e a magnitude do efeito parece depender do nível de suplementação (DOREAU; FERLAY, 1995) e o grau de insaturação da fonte. Incubações *in vitro* mostraram que entre AG, tanto ácidos linoleico quanto linolênico exercem um efeito negativo mais forte sobre a contagem de protozoários (HRISTOV; IVAN; MCALLISTER, 2004; SZUMACHER-STRABEL et al., 2004).

Pouco se sabe sobre os efeitos relativos de AG saturados versus insaturados ou comprimento de cadeia de AG sobre a liberação de colecistoquinina (CCK) e ingestão

de alimentos (WOLTMAN; CASTELLANOS; REIDELBERGER, 1995). A relação entre lipídios dietéticos ou infundidos e CCK em ruminantes tem recebido pouca atenção. Um aumento nas concentrações de sais de cálcio de AGCL em rações de vacas em lactação diminuiu linearmente o consumo de matéria seca (CMS) e aumentou as concentrações de CCK (CHOI; PALMQUIST, 1996). Nicholson e Omer (1983) sugerem que AGCL insaturados podem aumentar a secreção de CCK e, assim, inibir a motilidade reticulo-ruminal, que por sua vez pode diminuir o CMS. Drackley et al. (1992) deduziram que o grau de insaturação de AGCL atingindo o intestino delgado de vacas leiteiras poderia afetar a motilidade gastrointestinal e alterar o CMS.

A digestão ruminal dos carboidratos estruturais pode ser reduzida em 50%, ou mais, com menos de 10% de gordura adicionada (JENKINS; PALMQUIST, 1984). Esta redução na digestão é acompanhada por diminuição da produção de metano, hidrogênio, e de AGCC, incluindo uma menor relação acetato:propionato (CHALUPA et al., 1984).

A infusão de óleo de linhaça no rúmen de ovinos diminuiu a digestão ruminal da proteína e foi acompanhada pela diminuição da concentração de amônia e aumento do fluxo de nitrogênio (N) para o duodeno (IKWUEGBU; SUTTON, 1982). Os ácidos graxos poli-insaturados afetaram o transporte de glucose e taxas lipogênicas em adipócitos de ratos (LEE; DUPONT, 1991) e ruminantes (CHILLIARD et al., 1991).

Embora os ácidos graxos insaturados dentro de sementes inteiras são protegidos da bio-hidrogenação no rúmen, a semente pode permanecer intacta durante a sua passagem através do intestino delgado, resultando em reduzida digestibilidade dos ácidos graxos (ALDRICH et al., 1997).

A meta-análise de Glasser et al. (2008b) apresenta uma análise mais abrangente de suplementos lipídicos de sementes oleaginosas e sua influência sobre a composição da gordura do leite. O efeito antimicrobiano dos lípidos da dieta está relacionado com o grau de insaturação do AG presente (SZUMACHER-STRABEL et al., 2004; VÁRADYOVÁ et al., 2007; YANG et al., 2009). AGPI são mais tóxicos para bactérias bio-hidrogenadoras do que AG di ou monoenólicos (MAIA et al., 2010), portanto, óleos contendo AGPI, como o ácido linolênico, teriam um efeito maior sobre os processos de

bio-hidrogenação ruminal e fermentação do que aqueles ricos em ácido linoleico e oleico. Produtos insaturados de oleaginosas, incluindo linhaça, soja e sementes de girassol e óleos (além de sais de cálcio e amidas), aumenta o AG trans-18:1, este aumento ser mais acentuado com os óleos, particularmente de linhaça e girassol. O CLA cis-9, trans-11 no leite aumentou significativamente com sementes e óleos nas dietas (GLASSER et al., 2008b). Óleos ricos em ácido linoleico (girassol e soja) foram mais eficazes em aumentar o CLA no leite do que óleos ricos em linolênico (linhaça) (KENNELLY, 1996; BU et al., 2007.).

A mesma meta-análise mostrou que, em relação ao total de AG 18:2, os aumentos no leite foram observados com linhaça, soja e girassol, para ambas as sementes e óleos, enquanto o AG 18:3 aumentou com as sementes de linhaça e soja (GLASSER et al., 2008b).

Vacas em estresse calórico também diminuem o consumo voluntário, principalmente de forragem, devido ao calor produzido durante a fermentação ruminal destes alimentos, aumentando o desconforto térmico. Estes animais mobilizam mais energia para a perda de calor e manutenção da temperatura corporal, energia esta que poderia estar sendo direcionada à produção de leite. A maior eficiência observada para vacas consumindo dietas com gordura pode estar relacionada com menor gasto de energia para manutenção usada para dissipar calor em condições de estresse calórico (NRC, 2001).

No entanto, segundo Smith e Harris (1993), resultados de pesquisas tem sugerido que as respostas à suplementação com gordura em rações de vacas em lactação são mais frequentes quando estas são baseadas totalmente ou majoritariamente com silagem de milho como volumoso padrão. Quando são combinadas algumas fontes de gordura dietética e silagem de milho, são observados diferentes padrões de resposta. O aumento na concentração energética de dietas pré-parto, com a utilização de fontes de gordura, tem aumentado a ingestão voluntária de energia, gerado acréscimos no ganho de peso corporal, redução da mobilização de tecido adiposo e diminuição das concentrações plasmáticas de AGNE. Altas

concentrações de AGNE refletem em quedas de consumo e aumento do balanço energético negativo (RENNÓ et al., 2009).

A inclusão de gordura suplementar em $\leq 3\%$ da MS é recomendada para se obter o máximo de benefícios a partir da energia contida dentro da gordura e outros componentes alimentares em dietas de alta forragem. Aumentar o “status” de AG insaturados em ruminantes dá respostas fisiológicas que são separadas do valor energético de gordura suplementar. Ácidos graxos produzem mais energia do que outros nutrientes orgânicos quando metabolizados pelo animal (HESS; MOSS; RULE, 2008). Os valores de energia relatados no NRC (1982) são, pelo menos, duas vezes maiores (ou mais) para as fontes de gordura do que os grãos de cereais. Efeitos impostos pelas altas quantidades de gordura na dieta, no entanto, limitam a sua incorporação na dieta para não mais que 20% da energia metabolizável (EM) da dieta (PALMQUIST, 1994).

Estudo realizado por Harvatine e Allen (2006b), testando o grau de insaturação de suplementos lipídicos sobre o consumo de matéria seca e nutrientes, verificou que a adição de suplemento lipídico à dieta diminuiu o CMS e o aumento no grau de insaturação da fonte lipídica ingerida provocou diminuição linear no CMS, enquanto ácidos graxos saturados não afetaram esse parâmetro. Nesse experimento foram usadas oito vacas em lactação canuladas no rúmen e abomaso e as dietas suplementadas continham em torno de 40% de volumoso e 8% de ácidos graxos totais. Weiss e Wyatt (2004), avaliando vacas canuladas no rúmen com produção de leite em torno de 40 kg/dia e 50% de volumoso na dieta também só observaram diminuição no CMS, quando houve alta suplementação lipídica (3,4 % de AGCL) e essa apresentava maior quantidade de ácidos graxos insaturados. Outros estudos realizados por Avila et al. (2000), Salla et al. (2003), Loores et al. (2005), Huang et al. (2008), Santos et al. (2009) e Weiss e Pinos-Rodríguez (2009), todos com vacas leiteiras no terço médio de lactação, não detectaram influência de suplemento lipídico, independentemente do perfil do mesmo (saturado, insaturado ou ambos), sobre o CMS. Palmquist e Conrad (1978) não constatarem alterações no consumo de vacas no início de lactação com níveis de suplementação lipídica até 6,8% e 50% de concentrado na dieta. Harvatine e Allen

(2006b) verificaram diminuição no consumo de FDN com a adição de lipídio às dietas, independente do grau de insaturação da fonte lipídica. Já Avilla et al. (2000), variando a razão entre AG insaturados e saturados (sebo e gordura amarela) em dietas com 45% de feno de alfafa para vacas produzindo 35 kg/d de leite, não verificaram redução no consumo de FDN. Salla et al. (2003), avaliando vacas Jersey de 20 kg/dia de leite recebendo dietas com 50% de volumoso e 5 % de EE (sebo, sais de cálcio de óleo de palma e grão de soja moído) também não obtiveram essa redução. Assim como para CMS, o nível de suplementação possivelmente dita alterações no consumo de FDN.

Vargas et al. (2002), que estudaram o efeito do uso de grão de soja moído ou do óleo de soja no nível de 4% de EE na dieta de vacas produzindo 20 kg de leite/dia, constataram que as fontes lipídicas reduziram em 20% o CMS, sem alterar a produção de leite. Os resultados deste estudo estão de acordo com os relatos de vários autores, que também não observaram efeito no consumo de MS ao suplementarem dietas com diferentes fontes lipídicas (ELLIOTT et al., 1993; GRUMMER; LUCK; BARMORE, 1993; SMITH et al., 1993; DRACKLEY et al., 1994; PANTOJA et al., 1994; JENKINS; BERTRAND; BRIDGES, 1998). Entretanto, divergem dos resultados encontrados em outras pesquisas, nas quais a inclusão de lipídios nas dietas causou redução (GARCIA-BOJALIL et al., 1998; ONETTI et al., 2002; VARGAS et al., 2002) ou aumentos no consumo (PANTOJA; FIRKINS; EASTRIDGE, 1996a). Hinders (2000) cita que a produção de leite alcança sua máxima eficiência quando os ácidos graxos constituem 16% da EM. Segundo Jenkins (1997), para vacas da raça Holandesa, isto equivale a 600- 700 g de lipídios suplementares por dia, entretanto, a resposta máxima observada com adição de lipídios na dieta raramente excede 3,5 kg. Além disso, 700 g de lipídios seriam necessários para suportar esta produção (80% de digestibilidade da fonte lipídica e eficiência de 75% de utilização pela glândula mamária).

Com a adição de elevadas quantidades de lipídios nas dietas para ruminantes, a concentração de ácidos graxos voláteis (AGV) pode ser afetada (FERLAY et al., 1992; KHORASANI et al., 1996). A inclusão de óleos ou grãos de oleaginosas na dieta de ruminantes pode acarretar em baixas quantidades de acetato e altas de propionato, que geralmente estão relacionadas com baixa digestão da fibra (FERLAY et al., 1992;

TESFA, 1993). Eficiência microbiana parece ser aumentada pela gordura por causa da redução das contagens de protozoários e predação (CLARK; KANNEGANTI, 199; STERN et al., 1994.).

Efeitos da suplementação de gordura na digestão ruminal e escape não pode ser determinada com base apenas na dieta basal e na fonte de gordura fornecida. Os micro-organismos do rúmen foram capazes de adaptar-se parcialmente aos ácidos graxos insaturados, quando as gorduras foram introduzidas no rúmen em pequenas e mais frequentes refeições. Essa adaptação muitas vezes equalizou os efeitos dos ácidos graxos saturados e insaturados no rúmen e reduziu os efeitos sobre a contagem de protozoários. Apesar de uma relação negativa entre a contagem de protozoários holotrichia no rúmen e a eficiência de síntese de proteína microbiana (ESPM) no rúmen ser estabelecida, são necessárias mais pesquisas para explicar melhor os mecanismos específicos envolvidos no “turnover” mediado por protozoários da proteína microbiana (OLDICK et al., 2000).

Com relação à comparação entre fontes lipídicas insaturadas e saturadas, Pantoja et al. (1996a) avaliaram 5 dietas, sendo uma controle, sem adição de gordura, e quatro dietas com 5% de gordura adicionada na forma de sebo, sebo mais sebo parcialmente hidrogenado em proporções de 2:1 ou 1:2, ou sebo parcialmente hidrogenado; os índices de iodo foram 45, 35, 26 e 16 para as dietas com adição de gordura, respectivamente. As digestibilidades da MO, FDN e N não foram afetados pela suplementação de gordura ou pelo grau de saturação da gordura. A digestibilidade dos ácidos graxos foi menor para os animais alimentados com gordura do que para aqueles alimentados com a dieta controle e diminuiu linearmente com o aumento da saturação de gordura.

Em outro experimento, Pantoja et al. (1996b) avaliaram os efeitos da saturação de gordura, quantidade e fonte de fibra efetiva sobre o metabolismo do ácido graxo. Os animais foram alimentados com uma dieta controle sem adição de gordura ou dietas com 5% de adição de gordura sendo os tratamentos: sebo saturado, sebo ou mistura de gordura animal e vegetal; além disso, as dietas com gordura animal e vegetal tiveram três percentuais de fibra efetiva: 40% de volumoso, 40% de volumoso mais 20% de

casca de soja, ou 60% de volumoso. Vacas alimentadas com dietas suplementadas com gordura tendem a ter maior desaparecimento de ácidos graxos totais no rúmen do que aquelas alimentadas com a dieta controle. O desaparecimento de ácidos graxos do rúmen, especialmente C:16 e C:18, foi maior para os animais alimentados com a dieta pobre em fibras. Em ambos os ensaios o CMS aumentou linearmente à medida que a saturação da gordura aumentou.

De acordo com Harvatine e Allen (2006b), aumentando o suplemento de gordura insaturada diminui-se a produção de gordura no leite e há uma tendência em diminuir o consumo de energia digestível (ED). A teoria de bio-hidrogenação da depressão da gordura do leite foi consistente com a diminuição da produção de gordura do leite associado com o aumento das concentrações de CLA trans-10, cis-12 e o AG total trans C18:1. Vacas com depressão de gordura do leite aumentaram o ganho de peso corporal. A depressão da gordura do leite ocorre normalmente com pouco efeito sobre o consumo de MS, o que é esperado para aumentar o ganho de peso corporal. Isso pode ser explicado pelo tipo de energia disponível e a compensação incompleta da ingestão para manter a homeostase energética.

Kargar et al. (2010) concluíram em seu estudo que a adição de óleo de palma hidrogenado ou gordura amarela aumenta a densidade energética da dieta de vacas leiteiras e houve uma tendência de aumento na ingestão de energia líquida (EL), sem afetar o consumo de nutrientes. A suplementação de óleo de palma hidrogenado ou gordura amarela teve efeitos mínimos sobre os padrões alimentares e atividade de mastigação de vacas da raça Holandesa sob condições gerais de alimentação. As duas fontes de gordura pode substituir a outra, dependendo da disponibilidade ou custo.

A digestibilidade intestinal aparente de C18:0 em vacas leiteiras aumentou linearmente com o grau de insaturação do suplemento lipídico, independentemente do nível de concentrado na dieta (PANTOJA et al., 1996b). A partir de uma extensa revisão da literatura, concluiu-se que, em média, a digestibilidade dos ácidos graxos saturados aumenta moderadamente com o comprimento da cadeia e que os ácidos graxos insaturados são mais digestíveis do que os ácidos graxos saturados (DOREAU; FERLAY, 1994; DOREAU; CHILLIARD, 1997). A bio-hidrogenação que ocorre no

intestino grosso pode ter resultado em uma pequena subestimação da digestibilidade de ácidos graxos saturados e uma superestimação da digestibilidade de ácidos graxos insaturados, porque as digestibilidades no intestino delgado e grosso são relativamente próximas (DOREAU; FERLAY, 1994).

A digestibilidade e as características dos nutrientes não foram alteradas quando 2,2% de sebo foram adicionados à dieta contendo 10% de grãos integrais de soja (SCHAUFF et al., 1992a) ou alto teor de óleo de milho (ELLIOTT et al., 1993) para vacas em lactação, o que sugere que o sebo ou gorduras resistentes ao rúmen podem ser combinados com sementes oleaginosas para maximizar a gordura dietética para vacas em lactação, sem deprimir a digestibilidade de outros nutrientes (WU et al., 1994).

Ao utilizar suplementos lipídicos na dieta de vacas, é necessário sempre avaliar a categoria animal, tipos de fontes de lipídios e o seu fornecimento, pelo simples fato desses aspectos influenciarem a resposta do animal sobre a fonte de gordura. A partir da literatura nota-se que a suplementação de gordura pode ou não afetar o CMS, porém o grau de saturação, a porcentagem de inclusão no total da MS da dieta, a palatabilidade das dietas, o perfil de ácidos graxos, o método de suplementação e o período fisiológico influenciam diretamente no CMS (GANDRA, 2012).

2.2 Digestão e metabolismo ruminal de lipídios

Quando o material alimentar entra no rúmen, ele entra numa grande câmara de fermentação, onde se submete a uma vasta gama de transformações químicas realizadas pela população microbiana (HARFOOT, 1978). Os lipídios são amplamente alterados no rúmen, resultando em diferenças marcantes entre o perfil de ácidos graxos dos lipídios na dieta (principalmente ácidos graxos insaturados) e lipídios que saem do rúmen (principalmente AG saturados). Micro-organismos ruminais transformam lipídios que entram no rúmen via dois grandes processos, a lipólise e a bio-hidrogenação (BH). Lipídios que entram no rúmen são primeiramente transformados por lipases microbianas em um processo chamado lipólise. As lipases microbianas hidrolisam as

ligações éster em lipídios complexos, causando a liberação dos AG (GARTON; LOUGH; VIOQUE, 1961; DAWSON; HEMINGTON; HAZLEWOOD, 1977). Após a lipólise, os ácidos graxos insaturados sofrem BH por micro-organismos ruminais. Este processo converte os AGI para AGS via isomerização a intermediários de ácidos graxos trans, seguido por hidrogenação das ligações duplas (HARFOOT; HAZLEWOOD, 1988).

As taxas de lipólise e BH são dependentes do tipo e quantidade de gordura que chega ao rúmen (BEAM et al., 2000) e o pH ruminal (VAN NEVEL; DEMEYER, 1996). O grau de saturação da suplementação dietética influencia a digestão de gorduras e a absorção de gordura (BAUCHART, 1993; JENKINS, 1993). Mais gordura saturada geralmente tem menos efeitos prejudiciais sobre o metabolismo microbiano no rúmen, e mais gordura insaturada é absorvida de forma mais eficaz no intestino delgado (OLDICK et al., 1997). O acúmulo de C18:2n-6 no rúmen inibe a bio-hidrogenação completa (JENKINS; ADAMS, 2002). Há desaparecimento insignificante de ácidos graxos de cadeia longa a partir do rúmen (JENKINS, 1993) e o intestino delgado é o local principal de absorção de ácidos graxos (ANDERSEN et al., 2008).

A quantificação de ácidos graxos que realmente alcançam o duodeno para absorção é crucial para determinar o potencial de transferência para os tecidos animais ou leite (MERCHEN; ELIZALDE; DRACKLEY, 1997), porque os lipídios transformados no rúmen (60%) e os lipídios sintetizados pelos micro-organismos ruminais (35%) constituem 95% do total de lipídios que chegam ao duodeno (JENKINS, 1994).

De forma geral, a suplementação de ácidos graxos nas dietas de ruminantes tem as seguintes vantagens: aumento da ingestão de energia quando a ingestão de matéria seca é a mesma ou é reduzida (aumento da densidade energética da dieta); aumento da eficiência do uso de energia em decorrência de menor incremento calórico; aumento parcial da eficiência da produção de leite pela incorporação direta da gordura da dieta na gordura do leite; substituição de carboidratos rapidamente fermentáveis visando a otimização de consumo de forragem e fermentação ruminal (participação de nutrientes para a secreção do leite); possibilidade de uso de fontes alternativas de energia; utilizados para modificação da composição da gordura do leite ou de tecidos para

aceitação pelo consumidor e aumento da absorção de nutrientes solúveis (NRC 2001; PALMQUIST; MATTOS, 2006).

Assim, além de ser considerada uma fonte de energia, os ácidos graxos também são indicados e utilizados como moderadores do metabolismo e da fisiologia. Baseado nessas alterações no processo de digestão, a bio-hidrogenação ruminal deve ser determinada de acordo com a quantidade e o tipo de ácidos graxos presentes na digesta pós-rúmen, pois é a estrutura destes ácidos que determina a sua característica fisiológica e qualifica a fonte de gordura adicionada na ração (PALMQUIST, 2007).

Embora a bio-hidrogenação possa ser alta, acima de 90% de acordo com Allen (2000) e Chilliard et al. (2007), o desaparecimento dos ácidos graxos C18:3, n-3 e C18:2, n-6 no rúmen varia em média 93 a 85%, respectivamente. De acordo com NRC (2001) a estimativa de hidrogenação de AGPI varia de 60 a 90%, enquanto que a bio-hidrogenação de suplementos que contém AGPI pode ser de 30 a 40% se os ácidos graxos são fornecidos como sais de cálcio de ácidos graxos.

A intensidade da bio-hidrogenação depende da fonte e da quantidade destes ácidos graxos, exceto quando eles são protegidos da ação microbiana (JENKINS; BRIDGES, 2007). Os ácidos graxos presentes em células vegetais em volumosos torna a porcentagem de concentrado da dieta o principal fator que afeta a bio-hidrogenação. Dietas contendo mais de 70% de concentrado reduzem a bio-hidrogenação (FUENTES et al., 2009). Este comportamento pode ser atribuído devido ao baixo valor de pH, o qual tem se mostrado como limitante para a taxa de lipólise (DOREAU, 2011) e para a isomerização do ácido linoleico e a segunda redução, levando ao acúmulo de ácido vacênico.

Entretanto, a bio-hidrogenação pode ser menor dependendo da concentração de hidrogênio (H) no rúmen, onde somente 1 a 2% do hidrogênio metabólico é usado para este processo (CZERKAWSKI, 1984). Por outro lado, esse processo contribui para a retirada de íons H^+ do ambiente ruminal, evitando seu acúmulo, e para a redução da produção de metano (CH_4) pelas bactérias metanogênicas, uma vez que estas consomem hidrogênio, aumentando desta forma a eficiência energética da dieta se

todas as duplas ligações são completamente convertidas em ligações simples, e os ácidos graxos são saturados.

O metabolismo do ácido linoleico envolve a formação de ácido linoleico conjugado (CLA) principalmente C18:2 cis-9, trans-11 ou popularmente conhecido como ácido rumênico, que posteriormente pode ser convertido em ácido esteárico (C18:0). O ácido linolênico C18:3 é metabolizado de forma semelhante, embora o número de ligações insaturadas pode levar a um padrão de bio-hidrogenação mais complexo (HARFOOD; HAZLEWOOD, 1997; JENKINS et al., 2008). O principal intermediário do metabolismo do ácido graxo C18:3 foi demonstrado como sendo o ácido trienoico, C18:3 cis-9 trans-11, cis-15 (WASOWSKA et al., 2006). Outros intermediários identificados incluem C18:3 trans-9, trans-11, cis-15 e o ácido graxo C18:2 trans-11, cis-15.

2.3 Bio-hidrogenação e fluxo intestinal de ácidos graxos

A teoria da bio-hidrogenação foi proposta por Davis e Brown (1970), e elaborada por Pennington e Davis (1975). Após a hidrólise, os ácidos graxos poliinsaturados tornam-se disponíveis à ação microbiana para o processo de bio-hidrogenação, que se inicia pela isomerização da ligação cis-12 dos ácidos linoleico e linolênico à ligação trans-11, que quando resultante do ácido linoleico, formam AG cis-9, trans-11, ou CLA.

Em seguida, a dupla ligação cis-9 é hidrogenada, produzindo C18:1 trans-11 e C18:2 trans-11, cis-15 para os ácidos linoleico e linolênico, respectivamente. O C18:2 trans-11, cis-15 sofre uma hidrogenação na dupla ligação cis-15, produzindo também C18:1 trans-11, o qual é também hidrogenado na C18:1 trans-11, resultando em ácido esteárico. As bactérias envolvidas na bio-hidrogenação têm sido classificadas em grupos A e B, de acordo com o padrão metabólico (KEMP; LANDER, 1984). É preciso enfatizar que para se obter completa bio-hidrogenação de AGPI, ambos os grupos de bactérias são geralmente necessários.

O grupo A hidrogena os ácidos linoleico e linolênico somente a C18:1 trans-11, já o grupo B é capaz de hidrogenar ácidos graxos monoinsaturados a ácido esteárico. A espécie *Butyrivibrio fibrisolvens* tem sido reconhecida como a principal bactéria

responsável pela bio-hidrogenação de ácidos graxos insaturados no rúmen (KEPLER; TUCKE; TOVE, 1970).

A extensão da bio-hidrogenação é determinada pelas características da fonte de gordura, o tempo de retenção no rúmen, e as características da população microbiana (ALLEN, 2000), que também dependem da fase fisiológica do animal, tipo e quantidade de volumoso fornecido. Bio-hidrogenação ruminal pode ser simplesmente descrita como uma função do tamanho do conjunto de AG disponível, o tempo de retenção no rúmen e capacidade de hidrogenação bacteriana. A capacidade de hidrogenação bacteriana depende da espécie e da concentração da população microbiana, e o ambiente do rúmen. A bio-hidrogenação microbiana é um processo complexo de múltiplos passos, cuja cinética não está totalmente elucidada. Mais pesquisas específicas são necessárias para um melhor entendimento desse processo.

Bio-hidrogenação é tradicionalmente classificada como a proporção de AG insaturados ou ligações duplas que desaparecem no rúmen (TICE; EASTRIDGE; FIRKINS, 1994; WU; OHAJURUKA; PALMQUIST, 1991). Embora este seja um índice de metabolismo ruminal, ele não fornece uma descrição mecanicista da bio-hidrogenação de AG. Além disso, este método é inadequado para o cálculo da bio-hidrogenação de AG monoinsaturados porque o aparecimento de AG a partir da bio-hidrogenação não é determinado. A taxa de bio-hidrogenação pode ser determinada pela determinação *in vitro* e sistema de cultura contínua, mas ambos têm aplicação limitada em condições *in vivo*.

Harvatine e Allen (2006a) determinaram as taxas de bio-hidrogenação de ácidos graxos e passagem em vacas em lactação recebendo suplementos de gordura com variação no grau de saturação. Taxas de passagem fracionárias de primeira ordem foram determinadas pela divisão do fluxo duodenal de ácidos graxos por seus respectivos tamanhos de “pools” ruminais. A determinação das taxas de bio-hidrogenação exigiram o desenvolvimento de um modelo para calcular a transferência de ácidos graxos entre “pools”. Os tratamentos foram o controle e uma substituição linear de 25 g/kg de suplementação de ácidos graxos variando em relação à saturação do seguinte modo: saturados, mistura de saturados e insaturados e ácidos graxos

parcialmente insaturados. As taxas de passagem do C16:0, C18:0 e do total de ácidos graxos de 18 carbonos foram linearmente diminuídas com o aumento de ácidos graxos insaturados e a taxa de passagem fracionada do trans-18:1 foi influenciada de forma quadrática com um máximo para o tratamento intermediário.

O aumento de AGI aumenta a extensão de bio-hidrogenação do C18:2 e C18:3 e diminui a extensão de bio-hidrogenação do C18:1 e C18:1- trans. Os sais de cálcio não protegeram os AGPI da bio-hidrogenação ruminal, apesar de um média de pH ruminal de 6,0, e ácidos graxos insaturados diminuíram a bio-hidrogenação ruminal de C18:1-trans, resultando em aumento do fluxo duodenal desses ácidos graxos. O modelo permitiu uma descrição mecanicista da bio-hidrogenação ruminal e a determinação da extensão da bio-hidrogenação de C18:1 (HARVATINE; ALLEN, 2006a).

Beam et al. (2000) apresenta uma representação esquemática do metabolismo dos lipídios no rúmen, que incluiu a lipólise, a isomerização, e a hidrogenação, resultando na formação de AG saturados. A hidrogenação de linolênico e linoleico resultou na formação de AG trans-monoin saturados após a formação de intermediários trans-dieno, que são rapidamente metabolizados (HARFOOT; HAZLEWOOD, 1997).

A bio-hidrogenação do ácido oleico também inclui a formação de um certo número de intermediários C18:1- trans (MOSLEY et al., 2002). C18:1-trans podem ser hidrogenados em ácido esteárico, ou passar para o duodeno. Numerosos estudos *in vitro* têm demonstrado rápida bio-hidrogenação de C18:2 e C18:3, mas observaram uma menor capacidade para bio-hidrogenação C18:1-trans, especialmente com o aumento de AGPI (BEAM et al., 2000), diminuição do pH (MARTIN; JENKINS, 2002), e redução da fibra dietética (HARFOOT; HAZLEWOOD, 1997). O perfil de ácidos graxos que atinge o duodeno é determinado pelo perfil de AG dietético e metabolismo no rúmen.

Métodos *in situ* também foram empregados (ENJALBERT et al., 2003), mas estes são limitados por causa da entrada e saída de AG de sacos *in situ*. Métodos de modelagem da digestão de carboidratos no rúmen (ALLEN; MERTENS, 1988) podem ser aplicados ao metabolismo ruminal de AG. O “pool” e o método de fluxo determinam

as taxas de passagem ruminal de primeira-ordem e de digestão, utilizando o fluxo duodenal e o tamanho do “pool ruminal” (FIRKINS et al., 1998).

A medição do tamanho do “pool” ruminal de AG e o fluxo duodenal permitem o cálculo de taxas de passagem do rúmen e também a determinação da taxa fracional de bio-hidrogenação de AG, com a suposição de que o desaparecimento de AG é proveniente da bio-hidrogenação e não de oxidação ou absorção. O modelo também permite o cálculo da extensão da bio-hidrogenação individual de AG, calculada a partir de taxas de passagem e bio-hidrogenação (HARVATINE; ALLEN, 2006a).

Beam et al. (2000) conduziu 5 experimentos *in vitro* no intuito de identificar potenciais fatores que podem afetar as taxas de lipólise e bio-hidrogenação no conteúdo ruminal. A taxa de bio-hidrogenação de C18:2 em óleo de soja não foi afetada pela quantidade de cereais ou gordura fornecidos à vaca doadora, ou o tempo após a alimentação que o inóculo ruminal foi coletado. Com base nestes resultados, as concentrações elevadas de ácido linoleico na dieta possivelmente reduziram a bio-hidrogenação e aumentaram o fluxo pós-ruminal deste ácido graxo insaturado. O aumento da absorção de ácidos graxos insaturados também tem sido associado ao reduzido CMS de vacas leiteiras (DRACKLEY, 2000). Portanto, quando aumentou-se a concentração de C18:2, seja na forma de ácido livre ou esterificada, houve um declínio na sua BH. Em maiores quantidades de adição de lipídio (8 e 10% do substrato), o declínio na BH de C18:2 foi mais grave para o ácido livre do que para a forma de triglicerídeos. O ponto principal era como as dietas afetavam a BH do ácido graxo mais abundante em OS, que no caso é o C18:2. Os resultados mostraram que as taxas de BH do C18:2 foram extremamente consistentes durante todos os dias e horários, indicando que todas as mudanças no rúmen que ocorrem no dia a dia ou com o tempo após a alimentação, não eram graves o suficiente para afetar a cinética de lipídios.

Beam et al. (2000) também avaliaram lipólise e bio-hidrogenação em ovinos recebendo diferentes proporções de volumoso. Quando diminuiu-se a proporção de fibras nas dietas (42,8 para 19,5%) e aumentou-se a proporção de amido (12,2 para 35,7%), as taxas de lipólise e BH foram reduzidas em quase 50%. Um pH baixo também inibiu a lipólise e BH no rúmen em culturas *in vitro*. Com base nos resultados

de todos os cinco experimentos, os fatores que têm maior influência sobre as taxas de lipólise e BH foram a quantidade de gordura adicionada e o número de ligações duplas no ácido graxo.

Pantoja et al. (1996b) avaliaram os efeitos do grau de saturação de gordura e diferentes fontes de fibra em vacas leiteiras. A suplementação de gordura diminuiu significativamente a bio-hidrogenação de AG no rúmen, principalmente por causa da tendência de menor percentual de bio-hidrogenação em vacas alimentadas com a dieta com gordura saturada e casca de soja. BH não foi afetada pela concentração de fibra efetiva. Se a concentração ou fonte de volumoso afeta a bio-hidrogenação *in vivo* não está claro porque dados *in vivo* disponíveis são limitados.

Loor et al. (2004) estudaram o fluxo e bio-hidrogenação em vacas leiteiras recebendo alto e baixo concentrado (65 e 35 %, respectivamente) e 3 % de óleo de linhaça. O fluxo duodenal do total de ácidos linoleicos conjugados (CLA) aumentou 1,40 g/d com dietas de baixo concentrado e 3,01 g/d com alto concentrado quando houve inclusão de óleo de linhaça. Ácido vacênico (C18:1-trans11) e ácido linoleico conjugado (CLA) (C18:2-cis9, trans11 e C18:2-trans10, cis12) em carne e leite são exemplos de intermediários da bio-hidrogenação que podem ter implicações benéficas na saúde humana. Assim, o conhecimento adicional sobre bio-hidrogenação microbiana de ácidos graxos insaturados no rúmen pode beneficiar a nutrição e a saúde dos seres humanos. Os dados de estudos *in vivo* (KALSCHEUR et al., 1997) e *in vitro* (VAN NEVEL; DEMEYER, 1996) sugerem que a baixo pH ruminal reduz as taxas de BH no rúmen. Nesse estudo, entretanto, não foi observado um efeito de concentrado ou óleo de linhaça sobre o pH ruminal, que em média foi 6,38 (UEDA et al., 2003).

A bio-hidrogenação completa até ácido esteárico é promovida pela presença de células livres no líquido ruminal e nas partículas de alimentos (KELLENS; GODERIS; TOBBACK, 1986), mas é inibida de forma irreversível por grandes quantidades de ácido linoleico (HARFOOT; NOBLE; MOORE, 1973).

Jenkins et al. (1993) compilaram dados de 15 estudos publicados que analisaram o fluxo de lipídios para o intestino delgado de bovinos e ovinos. Dos 47 grupos de animais incluídos no conjunto de dados, 15 tinham perda líquida de lipídios da boca ao

duodeno. A perda lipídica pelo rúmen foi mais comum para as dietas com adição de gordura (11 em 15) do que para dietas de controle (4 em 15).

Por causa da limitada, e muitas vezes, conflitante informação sobre alteração do conteúdo de ácidos graxos dos alimentos derivados de ruminantes através do fornecimento de oleaginosas processadas em diferentes graus, foi realizado um estudo para avaliar a digestão de ácidos graxos em cordeiros alimentados com gordura suplementar de cártamo, semente que pertence à mesma família do girassol, na forma de sementes inteiras, sementes quebradas e óleo (PRICE et al., 2007). A BH ruminal de ácidos graxos de cártamo ricos em linoleico foi extensa, independentemente da forma física usada. No entanto, devido à bio-hidrogenação ruminal não ser completa, fornecer ácidos graxos de cártamo aumentou o fluxo duodenal e o desaparecimento intestinal de C18:2n-6 e intermediários da bio-hidrogenação. O fornecimento de suplementos de gordura à base de vegetais e peixe irá aumentar os intermediários da bio-hidrogenação disponíveis para o metabolismo de uma variedade de tecidos de animais ruminantes.

Doreau e Chilliard (1997) avaliaram 113 estudos sobre balanço de ácidos graxos e suas perdas no rúmen. Estes autores observaram que do total de ácidos graxos consumidos chegaram somente 80,1% ao duodeno. Esse resultado pode ser atribuído ao desaparecimento do AG C18:3, n-3 e C18:2, n-6 no rúmen que pode ocorrer em média 93 e 85%, respectivamente (CHILLIARD et al., 2007). Lundy et al. (2004) avaliaram a inclusão de óleo de soja e sais de cálcio de óleo de palma em 2,75% da matéria seca e a mistura das duas fontes de gordura em quatro vacas canuladas no rúmen e duodeno. Estes autores observaram aumento da bio-hidrogenação ruminal de C18:2 (n-6) que foram resultados coerentes, já que houve maiores perdas dos ácidos graxos insaturados observada no duodeno. De acordo com Doreau e Chilliard (1997) em dados analisados de mais de 100 observações de estudos publicados avaliando a bio-hidrogenação e fluxo de ácidos graxos, as perdas de C18:2 (n-6) e C18:3 (n-3), respectivamente são maiores quando se utiliza fontes de AG não complexados como óleos.

Em virtude do processo de bio-hidrogenação de ácidos graxos insaturados no rúmen, os ácidos graxos da dieta sofrem mudanças em sua estrutura química, e o perfil

de ácidos graxos que passam para o abomaso é alterado, sendo que para comprovar a bio-hidrogenação completa de AG, maiores concentrações do ácido esteárico (C18:0) teriam que ser encontradas na digesta abomasal comprovando tal condição (HAVERTINE; ALLEN, 2006a).

Glasser et al. (2008) em meta-análise sobre o fluxo duodenal de ácidos graxos C18 e C4 ao C16, concluiu que os óleos vegetais tem alta correlação no aumento de isômeros C18 no duodeno pela bio-hidrogenação ruminal. Os autores concluíram que existe relação positiva para a quantidade de isômeros C18 no duodeno com o C18 do leite. O C18 do leite tem um equilíbrio na proporção com os AG <C16 e tem um limite por mais que o fluxo duodenal seja intenso, isso não acarretará grande aumento no C18 do leite. Portanto, mudanças na taxa de bio-hidrogenação aliada ao consumo e ao tipo de AG presente na dieta, podem influenciar de forma acentuada o fluxo intestinal de AG.

Em outra meta-análise, Schmidely et al. (2008) usou um banco de dados construído a partir de 95 experimentos com 303 tratamentos para quantificar a BH de AG, a ESPM, o fluxo duodenal e absorção intestinal de AG totais e de AG com 12 a 18 unidades de carbono (C), em resposta a variações no teor de AG da dieta, na fonte ou no tratamento tecnológico do suplemento de gordura. Os fluxos de AG foram expressos em relação ao CMS para compilar dados de bovinos e ovinos. BH tendeu a aumentar de forma curvilínea com a ingestão de AG, enquanto AG na dieta não afetaram a ESPM. Uma relação linear entre o consumo de AG e o fluxo duodenal de AG totais foi obtida, com um coeficiente de 0,75 g de AG duodenal/kg CMS para cada g de AG ingerido/kg CMS.

Os balanços positivos de AG total (consumo - duodeno) entre experimentos foram relacionados às baixas ESPM. As relações entre os fluxos duodenais de AG com 12 a 18 unidades de carbono e os seus respectivos consumos foram lineares, com um coeficiente que aumentou com o número de unidades de carbono. O fluxo duodenal de AG de bactérias foi linearmente relacionado com a ingestão de AG, enquanto que a contribuição dos lipídios bacterianos ao fluxo duodenal diminuiu à medida que aumentou a ingestão de AG. Para cada AG com 12 a 16 unidades de carbono, a

predição de absorção de AG de seu respectivo fluxo duodenal foi linear. Para AG total e AG com 18 unidades de carbono, a absorção aparente estabilizou em altos fluxos duodenais. Todas essas relações foram discutidas de acordo com o conhecimento atual sobre o metabolismo microbiano no rúmen e a digestibilidade intestinal de AG no intestino. Além disso, os fluxos duodenais de AG também incluem os AG alimentares cis que escaparam da BH, e AG da síntese “de novo” pelas bactérias ruminais.

No entanto, mais pesquisas são necessárias para determinar mais claramente se os fluxos desses grupos de AG diferiam em termos de digestibilidade intestinal, a fim de construir um sistema de unidade de prever com precisão os fluxos de AG digestíveis no intestino (SCHMIDELY et al., 2008).

2.4 Fontes de ácidos graxos para ruminantes

2.4.1 Óleo de soja

O óleo de soja possui em torno de 75% de ácidos graxos insaturados em sua composição, de modo que estes podem atuar na diminuição da produção de metano e do aumento da produção de CLA (ALLEN, 2000; ONETTI; GRUMMER, 2004; PALMIQUIST; MATTOS, 2006). Segundo Dhiman et al. (2000), o óleo de soja é rico em ácido linoleico (C18:2). Esse ácido graxo insaturado, quando adicionado à dieta, tem inúmeros efeitos positivos como aumentar a eficiência da síntese microbiana devido à redução no número de protozoários no ambiente ruminal, reduzir a concentração de amônia (NH₃) ruminal pela redução no número de bactérias desaminadoras, e aumentar a disponibilidade de CLA, o qual tem considerável efeito anticarcinogênico quando presente na gordura do leite (LIN et al., 1995).

Porém, recomenda-se a inclusão de apenas 3% a 5% de óleo de soja na dieta (PALMQUIST; JENKINS, 1980), afim de reduzir a incidência de possíveis efeitos deletérios, como redução na digestibilidade de alimentos fibrosos, o que aumenta sua retenção ruminal e reduz a ingestão de MS (ALLEN, 2000), redução na produção de leite e no teor de gordura do mesmo (PALMQUIST, 1991; DHIMAN et al., 2000), e

diminuição na concentração de AGCC e na proporção de acetato:propionato no rúmen por inibição das bactérias gram-positivas (NAGARAJA et al., 1997).

A constatação acima foi avaliada também por Eifert et al. (2006), que observaram não apenas uma diminuição de 22% e 23,2% nos AGCC e nos AGCM, respectivamente, assim como um aumento de 29,6% de AGCL com a inclusão de óleo na dieta.

Bateman e Jenkins (1998), estudando o efeito da adição de óleo de soja (0, 2, 4, 6 ou 8% da dieta, MS) sobre a fermentação ruminal de vacas não lactantes recebendo 50% de volumoso, observaram que a adição de óleo de soja diminuiu a ingestão de MS, MO, e a concentração de AGCC total, acetato e propionato. No entanto, não causou efeito sobre a digestibilidade total da MS, MO, proteína, ou FDN. A digestibilidade aparente de AG declinou não linearmente de 91,1 a 59,4% quando OS foi adicionado às dietas. Sendo assim, estes autores concluíram que grandes quantidades de óleo de soja podem ser adicionadas em dietas com alta fibra sem aumentar a concentração ruminal de ácidos graxos insaturados ou diminuir a digestibilidade.

O efeito negativo do óleo sobre o consumo foi também verificado por Jenkins e Palmquist (1984). Isto ocorre porque fontes ricas em ácidos graxos insaturados, como óleo de soja, apresentam efeitos sobre a permeabilidade da membrana microbiana, inibindo principalmente a atividade de bactérias gram-positivas, modificando a fermentação ruminal (NAGARAJA et al., 1997). Com isso, há impedimento da adesão e multiplicação da população de bactérias celulolíticas, responsáveis pela fermentação da fibra, reduzindo a passagem do alimento pelo sistema digestivo e, conseqüentemente, o consumo.

Óleos reduzem a digestibilidade aparente total de carboidratos quando se fornece silagem de milho como volumoso comparado com outros volumosos como o feno de gramíneas (BEN SALEM et al., 1993). Por ser uma fonte de gordura insaturada desprotegida, o óleo de soja é extensivamente biohidrogenado no rúmen, podendo chegar à completa saturação como ácido esteárico.

2.4.2. Grão de soja

O grão de soja tem sido utilizado na alimentação de ruminantes com o propósito de ser fonte de proteína, especialmente pela alta concentração e adequado valor biológico deste nutriente, e por também apresentar uma fibra de alta digestibilidade, e com efetividade mediana quando comparado com forragens, mas superior a de outros alimentos concentrados (NRC, 2001; VALADARES FILHO; MAGALHÃES; ROCHA JÚNIOR, 2006). Também, pelo elevado teor de extrato etéreo, pode ser considerado alimento fonte de gordura para ruminantes. O grão de soja também se destaca pelo elevado valor de ácidos graxos insaturados e pela grande aceitação pelos animais. Além disso, a soja é bastante cultivada nas mais importantes bacias leiteiras do Brasil, especialmente nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Goiás, viabilizando a utilização do grão de soja na alimentação animal (RENNÓ et al., 2009).

Quando suplementamos lipídios através da inclusão de sementes oleaginosas na alimentação de vacas em lactação temos as seguintes vantagens: liberação gradual do óleo no ambiente ruminal; o que diminui a taxa de bio-hidrogenação ruminal; aumento da ingestão de energia sem redução do pH ruminal, o que pode ser interessante em situações onde é aconselhável menor inclusão de amido; reduzir o estresse térmico nas vacas de leite em clima quente através do aumento da eficiência do uso de energia em decorrência de menor incremento calórico; substituição de carboidratos rapidamente fermentáveis visando à otimização de consumo de forragem e fermentação ruminal, partição de nutrientes para a secreção do leite; aumento da flexibilidade para o preparo da dieta; utilizados para modificação da composição da gordura do leite e aumento da absorção de nutrientes solúveis. (NRC 2001; PALMQUIST; MATTOS, 2006).

Em um experimento com vacas leiteiras de 30 kg/dia de leite recebendo 10 % de grão de soja e até 4% de sebo na dieta total com 50 % de volumoso, Schauff et al. (1992a) não encontraram diferenças na ingestão de matéria seca com a gordura suplementar. Concentrações totais de AGV no líquido ruminal foram reduzidas quando gordura foi fornecida. As proporções molares de acetato tenderam a diminuir e as proporções molares de propionato tenderam a aumentar no líquido ruminal quando a

gordura foi adicionada, o que diminuiu as proporções de acetato:propionato. O pH ruminal, as proporções molares de butirato, isovalerato e valerato, e as concentrações de nitrogênio amoniacal não foram alterados pelos tratamentos. Diferenças na fermentação ruminal foram relativamente pequenas e, provavelmente, tiveram pouco efeito sobre o desempenho de vacas quando se usa grão de soja na dieta.

Bernard et al. (1990), avaliando os efeitos da adição de 9,4% de grão de soja cru ou tostado na dieta total de vacas leiteiras de 30 kg/dia de leite e recebendo 45% de silagem de milho, verificaram que as digestibilidades aparentes da MO, PB, EE, FDA e FDN tenderam a ser maiores quando foram alimentados com soja. A inclusão de soja aumentou os consumos de EE e fibra e a digestibilidade aparente dos nutrientes, mas não alterou a produção e composição do leite. A soja tostada não forneceu nenhum benefício adicional comparado ao grão de soja cru. A substituição de uma porção de milho e farelo de soja por grão de soja em rações para vacas leiteiras depois do pico da lactação melhorou a digestibilidade aparente de nutrientes e manteve a composição do leite. Esta resposta foi devido à ingestão mais elevada de FDA associadas com rações contendo soja, o que favoreceria um ambiente ruminal mais estável. A torrefação da soja para aumentar a quantidade de proteína indegradável no rúmen não melhorou a produção de leite em relação ao grão de soja cru. Sendo assim, os autores concluíram que não parece ser vantajoso o processo de torrefação a partir dos resultados do experimento quando são adicionados grãos de soja em 9,4% de MS da dieta e a silagem de milho é o único volumoso presente.

A utilização de grão de soja integral cru na alimentação de ruminantes tem sido evitada devido à possível presença de substâncias tóxicas, estimulatórias ou inibitórias, incluindo fatores alergênicos e anticoagulantes. Porém, a maior parte destas substâncias não apresenta problemas, sendo desativadas ou metabolizadas durante o processo de digestão, sendo a maior preocupação a presença de fatores que inibem a atividade da tripsina ou quimiotripsina. A presença destes fatores poderia apresentar um potencial de reduzir a digestibilidade da proteína da dieta e aumentar a excreção de nitrogênio (MC DONALD et al., 2002). Freitas Júnior (2008), Barletta (2010) e Naves (2010) apresentaram resultados semelhantes sobre a digestibilidade aparente total. Os

estudos mostraram que o grão de soja não influencia na digestibilidade dos nutrientes, o que demonstra o potencial de utilização do grão de soja nas dietas de animais no terço médio de lactação.

Teoricamente, o uso de grão de soja proporcionaria menor efeito da gordura sobre a digestibilidade de nutrientes por proporcionar lenta liberação de lipídios no rúmen, não superando a capacidade de hidrogenação dos micro-organismos ruminais e impedindo uma possível perda de digestibilidade de fibra pelo efeito negativo que gorduras insaturados prontamente disponíveis no rúmen podem causar nas bactérias fibrolíticas (COPPOCK; WILKS, 1991; PALMQUIST, 1991), resultado obtido também por Venturelli (2011) ao fornecer até 27% de GS em vacas no final de lactação produzindo aproximadamente 20 kg/dia de leite.

Messana (2009) incluiu grão de soja moído na dieta de novilhos Nelore e o fornecimento da dieta com 2% de lipídios resultou em menor concentração média de amônia no rúmen quando comparado com 4 e 6% de lipídios. O autor verificou ainda menor valor médio de pH ruminal nos animais que receberam maior teor de lipídios na dieta (6%). As concentrações ruminais de acetato, propionato, ácidos graxos de cadeia curta total, e a relação acetato:propionato, não foram influenciadas pelos diferentes teores de lipídios na dieta. A concentração de butirato reduziu linearmente com a adição de 6% de lipídio na dieta quando comparada as dietas com 2 e 4% de lipídio. A concentração de propionato da dieta com 6% de lipídio, 2 horas após a alimentação foi superior aos demais tratamentos, sendo a concentração de acetato desta dieta inferior. O autor justifica esse comportamento provavelmente devido ao crescimento de bactérias celulolíticas ser mais reduzido, pois bactérias gram-positivas são mais sensíveis que gram-negativas, sendo os ácidos graxos insaturados mais tóxicos as bactérias gram-positivas devido a alteração na permeabilidade da membrana celular que reduz a capacidade da célula regular o pH intracelular e a captação de nutrientes. Desta forma os micro-organismos gram-negativos, principalmente bactérias proteolíticas, são menos sensíveis aos ácidos graxos (DOREAU; FERLAY, 1995), sendo o principal produto de sua fermentação o propionato. Messana (2009) concluiu

que teores maiores de lipídeos como 4 e 6% na dieta podem ser utilizados sem alteração dos parâmetros ruminais.

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

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

Barletta et al. (2012) avaliaram a inclusão de diferentes níveis de grão de soja cru e integral (0, 8, 16 e 24% na MS total da dieta) na dieta de vacas leiteiras no terço inicial de lactação com média de produção de 31,21 kg/dia. Os autores não observaram efeitos sobre a produção de leite, teores de proteína, lactose, mas observaram uma tendência ($P < 0,10$) no aumento dos teores de gordura para as dietas suplementadas com grão de soja. Quando Barletta et al. (2012) avaliaram o consumo de matéria seca, somente observaram diminuição do consumo da dieta com inclusão de 24% de grão de soja, não sendo observado efeito sobre a digestibilidade da matéria seca. Nesse estudo os autores recomendam o uso da inclusão 16% de grão de soja cru e integral na dieta de vacas leiteiras, com média de 30 kg/dia, com silagem de milho como volumoso base. Os autores não observaram no experimento possíveis efeitos negativos da utilização de grão de soja crua, demonstrando seu potencial de utilização.

2.4.3. Sais de cálcio de ácidos graxos

Suplementos de ácidos graxos disponíveis comercialmente diferem em perfil de ácidos graxos e na interferência no metabolismo ruminal (HARVATINE; ALLEN, 2006a).

O mais comum deles são os sais de cálcio de ácidos graxos, obtido a partir de ácidos graxos de cadeia longa. Esses ácidos graxos reagem com os sais de cálcio, unidos na forma de um sal do tipo $R-COO-Ca$, popularmente conhecido como sabão de cálcio (RENNÓ, 2009). Os sais de cálcio de ácidos graxos são comumente conhecidos como “gordura protegida”, no entanto eles não são nem gorduras protegidas, nem “bypass”, uma vez que se misturam ao conteúdo ruminal e seus ácidos graxos são bio-hidrogenados. Os sais de cálcio devem ser apropriadamente chamados de “inertes”, por não interferirem na atividade microbiana no rúmen; normalmente, a bio-hidrogenação dos ácidos graxos insaturados nessas fontes é a metade do valor observado nas fontes convencionais (PALMQUIST; MATTOS, 2006). Considerando que ocorram possíveis efeitos deletérios da suplementação de algumas fontes de gordura insaturadas sobre a fermentação ruminal, esses produtos comerciais teriam como principal vantagem fornecer ácidos graxos essenciais que iriam passar direto para o abomaso sem que ocorresse liberação de ácidos graxos no rúmen, e consequentemente, intensa bio-hidrogenação ruminal, não afetando diretamente a população microbiana. Para tal, a ligação entre o cálcio (Ca) e os ácidos graxos não deve ser rompida.

Ácidos graxos ligados a íons de cálcio são considerados indisponíveis para a absorção bacteriana, mas os AG ficam disponíveis pela dissociação do íon cálcio. Os AG insaturados disponíveis para a absorção são parcialmente bio-hidrogenados no rúmen, levando à produção de isômeros de AG trans e AG saturados (HARVATINE; ALLEN, 2006a). Sais de cálcio de AG não estão totalmente protegidos no rúmen e a dissociação do íon de cálcio permite a bio-hidrogenação ruminal de AG insaturados (WU et al., 1991).

Existem disponíveis no mercado comercial sais de cálcio de ácidos graxos formados a partir de óleo de palma, colza e soja, sendo que os dois últimos são mais insaturados e mais dissociados e bio-hidrogenados no rúmen (RENNÓ, 2009).

Em alguns estudos, a utilização de sais de cálcio de ácidos graxos em vacas no período de transição não tem reduzido o consumo de matéria seca. Rodriguez-Sallaberry et al. (2007) e Duske et al. (2009) avaliaram a inclusão de sais de cálcio de ácidos graxos em rações de vacas da raça Holandesa no período de transição com

média de produção de leite de 34,0 kg/vaca/dia e um total de 5,9 % extrato etéreo (EE) na matéria seca total no período pós-parto. Estes autores não observaram redução do consumo de matéria seca no período pós-parto. Andersen et al. (2008) e Cerri et al. (2009) avaliaram vacas da raça Holandesa com suplemento comercial de ácidos graxos de óleo de palma e óleo de soja com dietas de 8,0 % e 5,5 % de EE, na matéria seca total das dietas respectivamente, para as rações com fonte de gordura. Estes autores também não observaram redução no CMS. Dessa forma, a inclusão de ácidos graxos de sais de cálcio em rações de vacas leiteiras pode ser considerada uma ótima alternativa como fonte de gordura, na tentativa de suprir a demanda energética de vacas leiteiras no início de lactação. Entretanto, é preciso considerar um período de adaptação e a aceitabilidade dessa fonte de gordura, pois em estágios críticos de baixo consumo de matéria seca os animais submetidos a essa rações podem não apresentar o desempenho esperado (GRUMMER; HATFIELD; DENTINE, 1990).

Florentini et al. (2012), avaliando fontes de gordura para novilhas de corte recebendo 60% de silagem de milho, observou que a ingestão de nutrientes foi influenciada pelas fontes lipídicas, e os animais que receberam o tratamento com gordura protegida ingeriram maiores quantidades de MO, PB, EE e FDN em relação ao óleo de soja e soja grão. Isto se deve ao maior consumo de MS, e consequentemente maior ingestão de quantidades de nutrientes, em comparação as demais dietas.

De acordo com Wang et al. (2010) respostas da suplementação de ácidos graxos protegidos ou inertes no rúmen para o consumo de matéria seca têm sido inconsistente e afirmou que a proteção dos ácidos graxos é incompleta é já vem sendo descrita em estudos anteriores (CHOUINARD et al., 1998; LUNDY et al., 2004), onde o fluxo de ácidos graxos insaturados pós-ruminal é menor do que o esperado.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local, instalações e animais

O experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite (LPBL) do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), em Pirassununga, e o período de coletas de amostras foi de 18 de novembro de 2011 a 09 de fevereiro de 2012. As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do LPBL. As dosagens de metabólitos séricos e a avaliação do perfil de ácidos graxos dos alimentos fornecidos, sobras e digesta abomasal foram realizadas nas dependências do Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do VNP (FMVZ/USP).

Foram utilizadas 8 vacas multíparas secas da raça Holandesa, de peso corporal de $614,3 \pm 59$ kg (média $\pm$ DP) e escore de condição corporal de $2,94 \pm 0,27$ (média $\pm$ DP), canuladas no rúmen e no abomaso. Todos os animais estavam com menos de 5 meses de gestação ao início do experimento, para evitar a situação de queda no consumo durante o final de gestação ao longo do experimento. Os animais foram distribuídos em dois quadrados latinos 4x4, balanceados e contemporâneos. Todos os procedimentos experimentais aplicados neste trabalho incluindo o procedimento cirúrgico seguiram os "Princípios Éticos na Experimentação Animal" recomendados pela Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (protocolo nº1603/2009).

Os animais foram alojados em estábulo tipo "free-stall", com ventilação forçada, em baias individuais de $17,5 \text{ m}^2$ de área e providas de camas de areia, sendo alimentados às 8 h e às 13 h 30. Peso corporal e escore de condição corporal (ECC) ao início do experimento foram utilizados para alocar os animais aos quadrados latinos, buscando reduzir a variabilidade dentro dos mesmos. O consumo das dietas experimentais foi mensurado diariamente com base na matéria seca para cada animal.

3.2 Dietas experimentais e análise de alimentos

Cada período experimental teve a duração de 21 dias, sendo os 11 primeiros de adaptação às dietas e os demais para coleta de amostras. Os animais foram alimentados com quatro dietas durante o período experimental, formuladas para serem isonitrogenadas e de forma a atenderem as exigências nutricionais de vacas adultas multíparas e secas, com aproximadamente 600 kg de peso corporal, conforme recomendações do NRC (2001).

As vacas foram distribuídas aleatoriamente para receber as seguintes dietas experimentais: 1) Controle (C), composto por uma dieta basal a base de farelo de soja e milho; 2) Óleo de soja (OS), com inclusão de 3,0% de óleo de soja na MS da dieta; 3) Grão de soja (GS), com inclusão de 16,0% de grão de soja cru e integral na MS da dieta; e 4) Sais de cálcio de ácidos graxos insaturados (SC), com inclusão de 3,2% na MS da dieta de Megalac-E® (QGN – Arm and Hammer®). As respectivas dietas e água foram fornecidas a vontade durante todo período experimental. A relação volumoso:concentrado utilizada durante o experimento foi de 80:20, sendo a silagem de milho como fonte de volumoso.

Diariamente foram feitas pesagens das quantidades do volumoso e dos concentrados fornecidos e das sobras de cada tratamento, para estimativa do consumo. Os animais foram arraçoados de acordo com o consumo de matéria seca no dia anterior, mantendo-se o percentual de sobras diárias das dietas entre 10 e 15% do fornecido, para não haver limitação de consumo. No fornecimento, o concentrado e o volumoso eram homogeneizados no cocho, e fornecidos na forma de dieta completa para impedir ou reduzir a seleção de alimentos pelos animais. Amostras das sobras de cada animal e da silagem foram coletadas após o período de adaptação às dietas, durante o período de avaliação de consumo, entre o 11º e o 17º dia experimental, perfazendo uma amostra composta dos diferentes dias, que após coletadas eram armazenadas a -20 °C para posterior análises químico-bromatológicas. O ingredientes dos concentrados eram coletados separadamente diretamente da fábrica de ração também durante o período de avaliação de consumo. A composição bromatológica dos

ingredientes e o perfil de ácidos graxos dos ingredientes, assim como a proporção dos ingredientes no concentrado e na dieta total utilizados nas dietas encontram-se nas Tabelas 1, 2, 3 e 4, respectivamente.

Tabela 1 – Composição química, nutrientes digestíveis totais (NDT); energia líquida de lactação (EL_L), e energia bruta (EB) obtidos para os ingredientes, com base na % de MS

Itens	Silagem de Milho	Farelo de Soja	Milho Moído	Grão de soja	Sais de cálcio	Óleo de soja
Matéria seca	27,77	91,42	90,72	93,94	95,98	99,99
Matéria orgânica	94,86	93,32	98,61	94,82	78,60	100,00
Matéria mineral	5,14	6,68	1,39	5,18	21,40	-
Proteína Bruta	6,95	48,88	8,23	36,31	-	-
PIDN ¹	3,54	1,14	2,15	3,48	-	-
PIDA ²	1,65	0,41	0,52	0,28	-	-
Extrato Etéreo	2,14	1,80	5,07	21,47	86,55	99,99
FDN ³	58,89	10,52	12,09	18,96	-	-
FDN _{cp} ⁴	54,50	9,25	9,69	15,05	-	-
CNF ⁵	26,88	32,12	73,22	18,08	-	-
FDA ⁶	37,42	7,81	6,61	12,55	-	-
FDNi	19,30	2,19	2,15	2,43	-	-
Lignina	4,44	1,21	1,84	3,64	-	-
NDT ⁷	64,99	81,60	88,87	98,31	166,59	200,52
EL _L ⁸ (Mcal/kg de MS)	1,60	2,20	2,10	2,90	5,39	6,27
EB ⁹ (kcal/kg de MS)	3916,0	4139,0	3931,0	4492,7	8695,8	9365,2

¹ Proteína insolúvel em detergente neutro (% da MS); ² proteína insolúvel em detergente ácido (% da MS); ³ fibra em detergente neutro; ⁴ fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; ⁵ carboidratos não fibrosos; ⁶ fibra em detergente ácido; ⁷ nutrientes digestíveis totais, estimado pelo NRC (2001); ⁸ energia líquida de lactação calculada de acordo com o NRC (2001); ⁹ energia bruta.

Tabela 2 – Composição de ácidos graxos dos ingredientes (g/100g de ácidos graxos)

Item	Ingredientes					
	Óleo de Soja	SC ¹	Grão de Soja	Milho moído	Silagem de Milho	Farelo de Soja
C14:0	0,55	0,14	0,25	0,07	0,30	0,85
C16:0	18,17	11,55	17,34	10,22	11,57	11,81
C18:0	3,24	3,24	3,96	3,77	3,12	2,77
C18:1 <i>cis</i>	12,47	13,35	16,53	21,67	23,04	22,89
C18:2	48,89	42,81	50,04	48,90	50,93	48,94
C18:3	-	6,60	4,79	4,87	6,11	3,64
Outros	4,58	0,42	0,31	-	0,39	1,19

¹ Sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®)

Tabela 3 – Ingredientes e composição químico-bromatológica dos concentrados experimentais com base na % de MS

Ingredientes	C ¹	OS ²	GS ³	SC ⁴
	% MS			
Milho moído	57,40	37,43	11,04	37,87
Farelo de soja	30,05	35,03	-	35,07
Óleo de soja	-	14,99	-	-
Grão de soja	-	-	80,42	-
Sais de cálcio	-	-	-	16,01
Ureia	5,65	5,65	1,61	5,65
Sulfato de amônia	0,80	0,80	0,80	0,80
Premix Vitamínico ADE	0,60	0,60	0,60	0,60
Fosfato bicálcico	1,25	1,25	1,26	1,25
Calcáreo	1,50	1,50	1,51	-
Mistura Mineral ⁵	1,25	1,25	1,26	1,25
Sal comum	1,50	1,50	1,51	1,50
Composição química				
Matéria seca	90,84	92,26	93,26	91,73
Matéria orgânica	90,29	90,24	88,75	88,30
Proteína bruta	36,34	37,13	35,68	37,19
Extrato etéreo	3,45	17,52	17,83	16,41
Fibra em detergente neutro	10,10	8,21	16,58	8,27
Carboidratos não fibrosos ⁷	40,40	27,38	18,65	26,44
FDNi	1,89	1,57	2,19	1,58
Fibra em detergente ácido	6,14	5,21	10,82	5,24
Lignina	1,42	1,11	3,13	1,12
Matéria mineral	9,71	9,76	11,26	11,70
NDT ⁷	75,53	91,91	88,87	88,94
EB (Mcal/kg MS)	3,50	4,33	4,45	4,33
EL _L ⁸ (Mcal/kg MS)	1,87	2,50	2,56	2,43

¹ Controle; ²óleo de soja; ³grão de soja; ⁴sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®).

⁵ Contém em 1 kg do produto: 125 mg de cobalto, 5625 mg de cobre, 9 mg de enxofre, 312 mg de iodo, 5000 de ferro, 18125 mg de Mn, 144 mg de Se, 23750 mg de Zn, 2000 UI de Vit A, 500 UI de Vit D, 12500 UI de Vit E;

⁶ estimados segundo HALL (2000);

⁷ estimado pelas equações do NRC (2001);

⁸Energia líquida de lactação.

Tabela 4 – Ingredientes e composição químico-bromatológica e composição de ácidos graxos das dietas experimentais

	C ¹	OS ²	GS ³	SC ⁴
Ingredientes	% MS			
Silagem de Milho	80,00	80,00	80,08	80,01
Milho moído	11,48	7,49	2,20	7,57
Farelo de soja	6,01	7,01	-	7,01
Óleo de soja	-	3,00	-	-
Grão de soja	-	-	16,02	-
Sais de cálcio de ácidos graxos	-	-	-	3,20
Ureia	1,13	1,13	0,32	1,13
Sulfato de amônia	0,16	0,16	0,16	0,16
Sal comum	0,30	0,30	0,30	0,30
Fosfato bicálcico	0,25	0,25	0,25	0,25
Calcáreo	0,30	0,30	0,30	-
Mistura Mineral ⁵	0,25	0,25	0,25	0,25
Premix Vitamínico ADE	0,12	0,12	0,12	0,12
Nutrientes				
Matéria seca	40,38	40,68	40,81	40,56
Matéria orgânica	93,95	93,95	93,64	93,55
Proteína bruta	12,83	12,99	12,67	13,00
Extrato etéreo	2,40	5,22	5,26	4,99
Carboidratos totais	78,72	75,73	75,71	75,56
Fibra em detergente neutro	49,13	48,75	50,46	48,77
Carboidratos não fibrosos ⁶	29,58	26,97	25,24	26,79
FDNi ⁷	18,15	18,08	18,22	18,09
Fibra em detergente ácido	31,16	30,98	32,12	30,99
Lignina	3,84	3,77	4,18	3,78
Matéria mineral	6,05	6,06	6,36	6,45
NDT ⁸	67,10	70,38	69,75	69,78
Energia Bruta (Mcal/kg MS)	3,83	4,00	4,02	4,00
Ácidos graxos	g/100g de AG			
C14:0	0,30	0,32	0,28	0,31
C16:0	11,14	11,39	12,27	11,23
C18:0	3,10	3,07	3,27	3,08
C18:1 <i>cis</i>	22,30	22,03	21,58	22,11
C18:2	49,30	49,30	49,88	49,25
C18:3	5,67	5,51	5,77	5,72
Outros	0,38	0,53	0,36	0,41
Total ácidos graxos	92,18	92,16	93,35	92,11
Total AG Insaturados	77,26	76,85	77,22	77,08

¹ Controle; ² óleo de soja; ³ grão de soja; ⁴ sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®).

⁵ Contem em 1kg do produto: 125 mg de cobalto, 5625 mg de cobre, 9 mg de enxofre, 312 mg de iodo, 5000 de ferro, 18125 mg d Mn, 144 mg de Se, 23750 mg de Zn, 2000 UI de Vit A, 500 UI de Vit D, 12500 UI d Vit E;

⁶% estimados segundo HALL (2000); ⁷% fibra em detergente neutro indigestível; ⁸ Estimado pelo NRC (2001).

Amostras de alimentos e sobras foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS) (método 930,15; AOAC, 2000), matéria mineral (MM) (método 942,05; AOAC, 2000), extrato etéreo (EE) (método 920,39; AOAC, 2000), proteína bruta (PB) ($N \times 6,25$; método 984,13; AOAC, 2000) e lignina (método 973,18; AOAC, 2000). O teor de proteína bruta foi obtido pela multiplicação do teor de nitrogênio total por 6,25. Amostras de alimentos e sobras também foram avaliadas para o nitrogênio insolúvel em detergente neutro e nitrogênio insolúvel em detergente ácido, de acordo com os métodos descritos no NRC (2001), para estimar os nutrientes digestíveis totais (NDT), utilizando a metodologia de Weiss (1999).

Uma parte das amostras de silagem e sobras e as amostras de digesta de abomaso e rúmen foram moídas em moinho de facas tipo Willey (Marconi® - MOD - 0.48) em peneira de crivo de 5 mm juntamente com nitrogênio líquido a -192°C em quantidade suficiente para evitar oxidação dos ácidos graxos (Havartine e Allen, 2006a). Em seguida as amostras foram liofilizadas (Terroni®) e moídas em moinho com peneira de crivo de 1 mm para posterior análises de ácidos graxos.

Os teores de carboidratos não-fibrosos (CNF) foram estimados segundo Hall (2000) onde: $\text{CNF} = 100 - [(\% \text{PB} + \% \text{EE} + \% \text{MM} + \% \text{FDN})]$.

Os nutrientes digestíveis totais foram calculados conforme equações de Weiss (1999), descritas no NRC (2001), em que: $\text{NDT} = \text{CNFd} + \text{PBd} + (\text{AGd} \times 2,25) + \text{FDNd} - 7$, onde PBd, CNFd, FDNd e AGd representam o total destes nutrientes digestíveis. Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) foram obtidos de acordo com método descrito por Van Soest, Robertson e Lewis (1991), utilizando-se α -amilase e sem adição de sulfito de sódio na determinação do FDN, em Sistema Ankon®. Já a fibra em detergente neutro livre de cinza e proteína (FDNcp) e a fibra em detergente ácido (FDA) foram obtidos conforme métodos descrito por Mertens (2002) e Van Soest e Robertson (1985), respectivamente. O teor de energia líquida foi estimado através da equação estabelecida pelo NRC (2001), em que $\text{EL (Mcal/kg)} = 0,0245 \times \text{NDT (\%)} - 0,12$.

3.3 Digestibilidade aparente total

A digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes foi determinada por meio da utilização do indicador óxido crômico (Cr_2O_3), por ser um indicador de fácil mensuração e de relativamente baixo custo. Do dia 9º ao 17º dia do período experimental foram inseridos pela cânula ruminal 15 g de óxido crômico (Cr_2O_3) sendo 5 g/dose nos horários 6, 14 e 22 h. As amostras de fezes (500 g) foram coletadas a cada 9 horas nos dias 15º, 16º e 17º do período de coleta totalizando 8 amostras de fezes para cada vaca / período, iniciando-se a primeira coleta às 9 horas da manhã do 15º dia e realizando-se a última coleta às 24 horas do 17º dia. O objetivo foi à formação do “pool” representativo com intervalo de 3 horas considerando um período de 24 horas para minimizar o efeito de variação da excreção de fezes ao longo do dia. As amostras de fezes coletadas foram pré-secas em estufa com ventilação forçada (60°C/72 horas) e processadas em moinho de facas com peneiras de porosidade de 1 mm. Posteriormente estas amostras foram analisadas quanto ao teor de MS, MO, PB, EE e FDN, de acordo com a metodologia anteriormente descrita para análise de alimentos.

Para estimativa da digestibilidade aparente total as amostras de fezes foram digeridas com ácido fosfórico (WILLIAMS; DAVID; IISMA, 1962) e o cromo foi quantificado por meio de reação colorimétrica. Para determinação da excreção fecal total foi utilizada a seguinte fórmula: $\text{EFT} = \text{óxido crômico fornecido (15 g)} / \text{quantidade de óxido crômico nas fezes}$. As concentrações de óxido crômico nas fezes foram determinadas através de leitura em espectrofotômetro colorimétrico, de acordo com método de Kimura e Miller (1957).

O coeficiente de digestibilidade da matéria seca foi calculado de acordo com a seguinte fórmula: $\text{CDMS} = (\text{MS ingerida} - \text{MS fecal}) / \text{MS ingerida} * 100$.

Os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes foram calculados através da seguinte fórmula: $\text{CDNut} = (\text{Nutriente consumido} - \text{Nutriente fezes}) / \text{Nutriente consumido} * 100$.

3.4 Fermentação ruminal

Para avaliação dos parâmetros de fermentação, as amostras de líquido ruminal foram coletadas no 18º dia de cada período, diretamente do rúmen dos animais canulados, de diferentes porções, de modo a obter uma amostra representativa do conteúdo total, sendo uma coleta realizada antes da alimentação (0 h), e seis coletas com intervalos de 2 horas após a alimentação (2, 4, 6, 8, 10 e 12 h). Logo após a coleta foram determinados os valores de pH ruminal utilizando-se potenciômetro (MB-10, Marte Científica, Santa Rita do Sapucaí, Brazil). As amostras foram armazenadas em caixa térmica e encaminhadas ao Laboratório de Bromatologia do LPBL da FMVZ-USP.

As amostras foram centrifugadas a 2000 x g por 15 minutos, 1 mL do sobrenadante foi colocado em tubo de ensaio e adicionando-se 0,2 mL de ácido fórmico P.A., arrolhado, identificado e armazenado a -20°C para determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Da mesma amostra 2 mL do sobrenadante foram pipetados e armazenados em tubos de ensaio contendo 1 mL de ácido sulfúrico a 1 N, para posterior determinação da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃).

A metodologia utilizada para análise de AGCC foi a preconizada por Erwin, Marco e Emery (1961), sendo utilizado cromatógrafo a gás (Modelo 9001 Gás Chromatograph, Marca Shimadzu) equipado com coluna de vidro Capilar – Stabilwax de 30m de comprimento e 0.53mm de diâmetro interno. Os gases utilizados foram o Hélio como gás de arraste na vazão de 8,01 mL/minuto, ar sintético como gás comburente na vazão de 40 kPa, e hidrogênio como gás combustível na vazão de 60 kPa. A temperatura de operação utilizadas do injetor e do detector de ionização de chamas foram de 250°C e da coluna de separação de 145°C.

Soluções padrões a 0,1 N de ácido acético, propiônico e butírico foram preparadas e padronizadas com hidróxido de potássio (KOH) 0,1 N, a fim de produzir solução padrão de ácidos graxos de cadeia curta de concentração conhecida.

As determinações foram realizadas injetando-se 1 μL de amostra em cromatógrafo integrado a computador, que processou os cálculos de quantificação, utilizando-se do software GCSolution Shimadzu.

O nitrogênio amoniacal (N-NH_3) foi determinado de acordo com Broderick e Kang, 1980. Foram adicionados aos tubos contendo amostras de líquido ruminal e ácido sulfúrico a 1 N, 1 mL de tungstato de sódio a 10%, e posteriormente as amostras foram centrifugadas a 1.200 x g durante 15 minutos. Em seguida foram pipetados 25 μL do sobrenadante a um tubo limpo e neste adicionados 5 mL do reagente fenol e 5 mL de hipoclorito.

Os tubos foram agitados para homogeneização das amostras e colocados em banho-maria a 37°C durante 15 minutos adquirindo coloração azul. Após resfriamento as amostras foram analisadas em espectrofotômetro quanto a sua absorbância e os resultados obtidos foram utilizados em equação de regressão para calcular a concentração em mg/dL, onde: Concentração de N-NH_3 (mg/dL) = Absorbância – (a)/b; $b = R^2$ da equação elaborada a partir do padrão.

3.5 Síntese de proteína microbiana

As análises para determinação da síntese de proteína microbiana foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do VNP-FMVZ-USP. Alíquotas de 50 mL de urina (amostra *spot*) foram obtidas de todas as vacas no 13º dia do período experimental, aproximadamente 4 horas após a alimentação, durante micção estimulada por massagem na vulva. A urina foi filtrada e alíquotas de 10 mL foram diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico. Uma amostra de urina pura foi armazenada para determinação dos compostos nitrogenados totais, de ureia e creatinina.

As concentrações de creatinina foram determinadas por meio de kits comerciais (Bioclin®), utilizando reação enzimática colorimétrica cinética em aparelho

semiautomático SBA-200 (CELM®). O volume urinário total diário foi estimado dividindo-se as excreções urinárias diárias de creatinina, calculadas a partir do peso corporal, pelas concentrações de creatinina na urina das amostras spot, segundo Oliveira et al. (2001).

A excreção urinária diária de creatinina foi estimada a partir da excreção média diária de 24,05 mg/kg de peso corporal para vacas leiteiras (CHIZZOTTI et al., 2007). Dessa forma, com a excreção média diária de creatinina e a concentração de creatinina (mg/dL) na amostra spot de urina, foi estimado o volume total diário de urina, em litros por vaca/dia. As concentrações de alantoína na urina e de ácido úrico na urina foram determinadas pelo método colorimétrico, conforme metodologia de Fujihara, Ørskov e Reeds (1987).

A excreção total de derivados de purinas (DP) foi calculada pela soma do ácido úrico e da alantoína excretados na urina, ambos expressos em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas por meio da equação: $Pabs = (DP - 0,385 \cdot PV^{0,75}) / 0,84$, em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina e $0,385 \cdot PV^{0,75}$, a excreção endógena de derivados de purina (CHEN; GOMES, 1992).

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

3.6 Taxa de passagem de líquidos e dinâmica ruminal

A determinação dos “pools” e fluxo de nutrientes foi estimada a partir do esvaziamento ruminal e pela concentração do indicador interno fibra em detergente

neutro indigestível (FDNi). Para obtenção do teor de FDNi nas amostras, utilizou-se 4 repetições de cada amostra pré-seca, de alimentos, sobras, rúmen, abomaso e fezes, as quais foram acondicionadas em sacos de tecido não tecido (TNT 100g/m²), com dimensões de 4 x 5 cm, segundo a relação de 20 mg de matéria seca por centímetro quadrado de superfície (NOCEK, 1988). As amostras foram incubadas por 288 horas no rúmen de dois novilhos da raça Nelore, previamente adaptados com concentrado a base de farelo de soja e milho moído e volumoso a base de silagem de milho, de acordo com a metodologia adaptada por Casali et al. (2008).

A taxa de renovação ruminal da FDNi no rúmen foi calculada dividindo-se o consumo de FDN/h pelo tamanho do compartimento (massa de FDN ruminal). A taxa de passagem da FDN pelo rúmen (kp) foi calculada dividindo o tamanho do compartimento ruminal de FDNi pelo consumo de FDNi, baseado no modelo de dois compartimentos para digestão de celulose proposto por Waldo, Smith e Cox (1972). A taxa de digestão ruminal em FDN (kd) foi calculada pela diferença entre a taxa de remoção total de FDN do rúmen e sua taxa de passagem (ALLEN; MERTENS, 1988): $Kd = \text{consumo/h de FDN digestível} - kp / \text{Tamanho do compartimento ruminal de FDN digestível}$. A digestibilidade ruminal aparente do FDN como porcentagem do FDN foi calculada como: $\text{Digestibilidade ruminal do FDN} = kd / (kd + kp)$.

A taxa de renovação ruminal, taxa de passagem pelo rúmen, e a taxa de digestão ruminal de cada componente foi calculada de acordo com Oba e Allen (2003). Durante a retirada do conteúdo ruminal, alíquotas de 10% da digesta foram separadas para permitir uma amostragem mais acurada e realmente representativa. As alíquotas foram filtradas em malha de náilon com 1,0 mm de porosidade para separação do conteúdo sólido do líquido para garantir uma acurada análise. As frações de amostras do conteúdo ruminal, e abomaso nas fases sólida e líquida, foram pré-secados e corrigidos para matéria seca original, e acondicionadas em congelador à -20 °C, até a realização das análises (HAVERTINE e ALLEN, 2006b).

A determinação do volume líquido e da taxa de passagem de líquidos pelo rúmen foi realizada com a utilização do marcador polietilenoglicol (PEG) de peso molecular 4.000 (PEG 4.000). As 8 h do 18º dia foram introduzidas, através da cânula ruminal,

100 g de PEG (carbowax 4.000, marca Synth) previamente diluídos em 400 mL de água, misturando-se em seguida o indicador com conteúdo ruminal manualmente. Amostras de conteúdo para determinação das concentrações de PEG foram tomadas às zero horas antes da alimentação e às 1, 2, 4, 8 e 24 horas após a alimentação. A amostra referente ao tempo zero foi coletada antes da introdução do PEG, sendo a água e a refeição da manhã fornecidas imediatamente após a primeira coleta, ou seja, às 8 h. O líquido ruminal foi centrifugado por 10 minutos a 2000 x g e o sobrenadante armazenado sob refrigeração até a realização das análises. A determinação da concentração de PEG foi realizada segundo o método preconizado por Hyden (1956). A taxa de passagem de líquido ou taxa eferente de fluxo, em porcentagem por hora, foi calculada por intermédio da regressão linear do logaritmo natural da concentração do PEG 4.000, em função do tempo.

3.7 Balanço de energia

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

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

Os valores de energia metabolizável (EM) foram obtidos pela seguinte fórmula:

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

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

3.8 Balanço de nitrogênio

Para o cálculo de balanço de nitrogênio foi realizada a determinação da concentração de creatinina na urina de acordo com metodologia descrita por Valadares et al. (1999) e Rennó (2003). As amostras *spot* de urina foram obtidas de todas as vacas no 13º dia de cada período experimental, quatro horas após a alimentação matinal, durante micção estimulada por massagem na vulva. A urina foi filtrada e alíquotas foram armazenadas a -15°C para determinação dos compostos nitrogenados totais, de ureia e creatinina.

As concentrações de creatinina foram determinadas por meio de kits comerciais (Laborlab®), utilizando reação enzimática calorimétrica cinética em aparelho SBA-200 CELM. Para a realização dessa análise, 100 μL de urina foram diluídos em 4900 μL de água deionizada. Os resultados obtidos foram calculados pela seguinte fórmula: Creatinina (mg/dL) = creatinina (mg/dl) $* 0,020 * 50$ (BIGGS; COPPER, 1961).

O volume urinário diário total foi estimado dividindo-se as excreções urinárias diárias de creatinina pelos valores observados de concentração de creatinina na urina das amostras *spot*, segundo OLIVEIRA et al. (2001). A excreção urinária diária de creatinina foi estimada a partir da proposição de 24,05 mg/kg de peso vivo (PV) (CHIZZOTTI et al., 2007).

Dessa forma, com a excreção média diária de creatinina e a concentração de creatinina (mg/dL) na amostra *spot* de urina, foi estimado o volume total diário de urina, em litros por vaca/dia, para o cálculo do balanço de nitrogênio.

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

O nitrogênio total das amostras de urina foi determinado de acordo com as metodologias descritas pela AOAC (2000) (método 984,13; AOAC, 2000).

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

3.9. Bio-hidrogenação ruminal e fluxo abomasal de ácidos graxos

Amostras da digesta abomasal (aproximadamente 1000 g), foram coletadas com intervalo de 9 h do 15º ao 17º dia de cada período experimental perfazendo um total de 8 amostras por vaca por período, para formação de um “pool” representativo com intervalo de 3 horas considerando um período de 24 horas, com o intuito de minimizar o efeito de variação da amostragem ao longo do dia.

A fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) foi usada como indicador para a fase sólida para o cálculo do fluxo abomasal. O conteúdo ruminal foi evacuado manualmente através da cânula ruminal em dois momentos, objetivando uma maior representatividade do conteúdo ruminal: às 12 h 30 (4,5 horas após a alimentação, em que o rúmen estaria teoricamente mais cheio) no 20º dia do período experimental e às 5 h 30 (2,5 horas antes da alimentação, em que o rúmen estaria teoricamente mais vazio) no 21º do período experimental (HAVERTINE; ALLEN, 2006b). O conteúdo total do rúmen foi mensurado quanto ao volume, através de tambores graduados de 150 litros e peso, através de balança. Durante o esvaziamento uma alíquota de aproximadamente 10% do total evacuado foi retirada gradativamente no intuito de representar uma amostra do esvaziamento. As amostras foram pesadas e encaminhadas para separação das fases sólida e líquida em uma malha de 1 mm sendo as subamostras

novamente pesadas e re combinadas de acordo com a razão original da MS. Cerca de 500g das fases sólida e líquida foram retiradas e armazenadas a -20 °C para posterior análises.

As amostras de silagem e sobras foram moídas em moinho (MARCONI ®) com nitrogênio líquido a -196,0° C em peneira de crivo de 5 mm, e as subamostras em forma de cristal de gelo encaminhadas para serem liofilizadas (MARCONI ®) para análise de AG. As amostras de silagem e sobras foram novamente moídas em moinho com peneira de crivo de 1 mm. O suplemento de gordura sais de cálcio de ácidos graxos (MEGALAC-E) foi moído também com utilização de nitrogênio líquido em peneira de crivo de 1 mm para evitar aquecimento e oxidação dos ácidos graxos. Os demais ingredientes farelo de soja, grão de soja e milho foram moídos em moinho com peneira de crivo de 1 mm.

As amostras do abomaso foram combinadas para formação do “pool” formado a partir das 8 amostras/vaca/período. O pool foi filtrado em tecido de náilon de 1 mm para separação das fases sólida e líquida e para minimizar erros de amostragem devido a segregação de amostras das fases. Ambas as fases foram pesadas e as subamostras foram colhidas para cada fase. Parte das amostras foram liofilizadas para análise de ácidos graxos. Outra parte das subamostras das fases líquida e sólida foram secas em estufa com circulação forçada de ar (60°C), moídas em peneira de crivo de 1 mm e re combinadas pela razão original da MS.

A concentração de todos os nutrientes foi expressa em porcentagem da MS após serem secas em estufa de 105°C. A fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) foi determinada após incubação no rúmen de animais Nelores por 288 horas adaptados com dieta de relação volumoso:concentrado 80:20, mesma utilizada durante o experimento, com a silagem de milho como fração volumosa (CASALI et al., 2008). na proporção de 25 mg/cm² em sacos de tecido TNT (tecido não tecido) com malha de 50 µ (NOCEK, 1988). O pool ruminal (kg) de nutrientes foi determinado multiplicando a concentração de cada componente da digesta ruminal pela massa ruminal de MS em kg.

As taxas de bio-hidrogenação foram calculadas por meio do modelo usado por Jenkins e Bridges, (2007), que leva em consideração somente o desaparecimento dos ácidos graxos consumidos e que aparecem no fluxo abomasal calculado de acordo com a seguinte fórmula: Bio-hidrogenação de ácidos graxos poliinsaturados (BAGPI) = $100 * (AGPI_{\text{inicial}} - AGPI_{\text{final}}) / AGPI_{\text{inicial}}$ sendo: Ácidos graxos poliinsaturados no início do processo ($AGPI_{\text{inicial}}$) = Consumo de AGPI (g) no início da incubação; e Ácidos graxos poliinsaturados no final do processo $AGPI_{\text{final}}$ = fluxo duodenal ou abomasal de AGPI (g).

3.10. Perfil de ácidos graxos

Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (GC Shimatzu modelo 20-10, com injeção automática), usando coluna capilar SP-2560 (100 m × 0,25 mm de diâmetro com 0,02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). A temperatura inicial foi de 70° C por 4 minutos (13° C/minuto) até chegar a 175° C, mantendo por 27 minutos. Depois, um novo aumento de 4° C/minuto, foi iniciado até 215° C, mantendo durante 31 minutos. Hidrogênio (H₂) foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 40 cm/s. Durante o processo de identificação foram utilizados quatro padrões: standard C4-C24 de ácidos graxos (Supelco ® TM 37), ácido vacênico C18:1 trans-11 (V038-1G, Sigma®), C18 CLA:2 trans-10, cis-12 (UC-61M 100mg), CLA e C18:2 cis-9, trans-11 (UC-60M 100mg), (NU-CHEK-PREP EUA ®) para identificação dos ácidos graxos que são formados durante a bio-hidrogenação de ácidos graxos insaturados.

3.11. Avaliação do escore de condição corporal e peso corporal

O escore de condição corporal (ECC) e o peso corporal foram avaliados no sétimo dia de adaptação e no final de cada período experimental, para avaliação da variação de peso.

O peso dos animais foi correspondente à média de duas pesagens sucessivas, feitas antes do fornecimento das alimentações durante dois dias. Para o cálculo da variação de ECC e de peso corporal, foram considerados os pesos do sétimo dia de adaptação e do final de cada período experimental. As mensurações do ECC foram realizadas com numeração de 1 a 5, sendo o escore 1 referindo-se a vacas muito magras e o escore 5 a vacas muito gordas, segundo metodologia proposta por Wildman et al. (1982) e desenvolvida por Edmonson et al. (1989).

3.12. Metabólitos sanguíneos

As coletas de sangue foram realizadas no 13º dia do período experimental por punção da veia e/ou artéria coccígea, anteriormente ao fornecimento das rações no período da manhã. As amostras foram coletadas em tubos vacuolizados (vacutainer) de 10 mL para dosagem dos parâmetros sanguíneos glicose (GL), colesterol total (CT), colesterol de alta densidade (C-HDL), proteínas totais (PT), albumina, ureia, e as enzimas aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamil transferase (GGT).

Imediatamente após coleta as amostras foram refrigeradas e centrifugadas a 2000 x g durante 15 minutos, para a separação do soro. O soro obtido foi transferido para tubetes plásticos, identificados e armazenados a -20° C, até o procedimento das análises laboratoriais. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do VNP-FMVZ-USP.

As análises das concentrações dos parâmetros sanguíneos glicose, CT, C-HDL, PT, albumina, ureia, AST, e GGT, foram realizadas por meio de kits comerciais (Laborlab®, CELM®, Randox®) que utilizam método enzimático colorimétrico de ponto final ou cinético. A leitura foi realizada em analisador automático de bioquímica sanguínea (Sistema de Bioquímica Automático SBA-200 - CELM®).

A concentração de C-HDL foi determinada em duas etapas, sendo a primeira envolvendo preparação previa das amostras, e a segunda a análise propriamente dita. Para a realização da análise da concentração de C-HDL, 200µL da amostra foram

pipetados em tubos Ependorff de 2,5 mL, juntamente com 100µL do reativo único precipitante (CELM®-1763) na proporção de 2:1 e misturados manualmente por inversão suave durante 20 segundos. Em seguida as amostras foram deixadas em repouso por 10 minutos. Posteriormente, as amostras preparadas foram centrifugadas durante 15 minutos a 2700 x g. Nos volumes centrifugados (sobrenadante) restaram as moléculas de CHDL ligadas ao colesterol sendo estas analisadas por Sistema Bioquímico Automático (SBA-200).

3.13. Análises estatísticas

Os dados foram analisados usando o procedimento PROC MIXED (Versão 9.2, SAS Institute, Cary, NC 2010) de acordo com o modelo estatístico:

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

Onde: Y_{ijk} = variável dependente, μ = média geral, ($i = 1$ a 8), A_j = efeito aleatório de animal dentro do quadrado ($i = 1$ a 8), P_y = efeito fixo de período ($j = 1$ a 4), T_k = efeito fixo de tratamento ($k = 1$ a 4), Q_i = efeito fixo de quadrado e e_{ijk} = erro.

Foram avaliadas previamente à análise estatística a homogeneidade dos erros, a normalidade e a independência dos erros. Para avaliação dos efeitos de tratamentos foram considerados os contrastes ortogonais: C1= controle *versus* fontes de gordura (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos insaturados). O objetivo foi comparar a dieta controle com as fontes de gordura independente da fonte de ácidos graxos; C2= óleo de soja *versus* sais de cálcio e grão de soja; esse constraste foi montado para comparar uma fonte de ácidos graxos não complexados (óleo de soja) com as duas formas de ácidos graxos complexados; C3= grão de soja *versus* sais de cálcio. O objetivo do constraste três foi comparar as duas formas de proteção dos ácidos graxos insaturados.

O método de Kenward-Rogers foi usado para calcular os graus de liberdade do denominador do teste F. De acordo com Wolfinger (1993), um dos procedimentos para

seleção da estrutura de covariância usada foi o critério de informação de Akaike, nos quais os menores valores sugerem a melhor estrutura.

As variáveis avaliadas na fermentação ruminal (pH e concentrações de N-NH₃, Acétato, Propionato, Butirato e AGCC) foram analisadas como medidas repetidas no tempo, no PROC MIXED do SAS 9.0. A metodologia de Akaike foi utilizada para determinar a matriz de covariância a ser utilizada. Todas as dietas foram confrontadas dentro de cada tempo através da opção PDIFF (Perceptual Diff) com as médias obtidas por meio do LSMEANS (Least Squares Means). Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância adotando-se o nível de significância de 5%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes

Os resultados de consumo de matéria seca e nutrientes estão expressos na Tabela 5. No presente estudo, as quantidades de suplementos lipídicos das dietas suplementadas foram estabelecidas para promover teores em torno de 5% de lipídios na matéria seca da dieta total. Essa proporção de lipídio possivelmente não foi suficiente para influenciar o consumo de matéria seca das vacas, mesmo tendo os suplementos uma quantidade expressiva de ácidos graxos poliinsaturados. Um dos fatores que pode explicar esse resultado seria que os animais avaliados não tiveram um grande desafio no consumo (CMS foi em média de 1,85% do PC). De forma geral, a interferência no CMS é verificada quando a quantidade de suplemento é mais alta, enquanto níveis de suplementação até valores próximos de 6% da MS ingerida não afetariam o CMS.

Tabela 5 – Consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes em função das dietas experimentais

Parâmetros	Dietas experimentais ¹				EPM ²	Valor de P		
	C	OS	GS	SC		C1	C2	C3
Consumo (kg/dia)								
Matéria seca	11,92	11,72	11,52	12,17	0,61	0,767	0,318	0,347
Matéria orgânica	11,21	11,01	10,80	11,42	0,57	0,698	0,285	0,356
Proteína bruta	1,64	1,67	1,59	1,73	0,08	0,740	0,113	0,402
Extrato etéreo	0,30	0,72	0,72	0,71	0,04	<0,001	0,832	0,653
FDN	5,59	5,39	5,56	5,60	0,14	0,709	0,363	0,877
FDNi	1,77	1,70	1,71	1,77	0,05	0,475	0,52	0,484
CNF	4,40	3,91	3,73	4,11	0,20	<0,001	0,791	0,027
NDT	8,20	8,57	8,31	8,86	0,43	0,174	0,172	0,356
Mcal/dia								
ELL	19,96	21,47	21,35	22,32	1,07	0,014	0,434	0,291
Coeficiente de Digestibilidade Total %								
Matéria seca	70,62	67,84	68,89	67,85	0,59	0,002	0,165	0,986
Matéria orgânica	72,83	70,25	71,06	70,77	0,53	0,004	0,433	0,525
Proteína bruta	73,57	72,98	73,02	73,28	0,53	0,535	0,895	0,747
Extrato etéreo	84,88	87,11	87,06	86,64	0,24	<0,001	0,618	0,265
FDN	61,87	57,65	59,14	58,01	0,95	0,006	0,291	0,802
CNF	72,13	73,32	72,14	72,10	0,33	0,154	0,759	0,451
Consumo (% PC ³)								
Matéria seca	1,87	1,83	1,80	1,88	0,09	0,515	0,360	0,453
FDN	0,88	0,84	0,87	0,87	0,04	0,510	0,587	0,476

¹ Controle (C); óleo de soja (OS); grão de soja (GS); sais de cálcio de ácidos graxos (SC), (Megalac-E®). C1= controle versus fontes de gordura (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos); C2= óleo de soja versus sais de cálcio e grão de soja; C3= grão de soja versus sais de cálcio. ² Erro padrão da média ³ peso corporal.

As proporções da maioria dos nutrientes nas dietas (Tabela 3) de todos os tratamentos foram semelhantes, assim como o consumo de matéria seca (Tabela 5), e consequentemente o consumo de MO, PB, FDN e NDT (Tabela 5) também não diferiram entre tratamentos. O consumo de extrato etéreo foi maior para dietas com fontes lipídicas em comparação ao controle, esse efeito já era esperado pela maior concentração de lipídios acrescentados às dietas com suplementação. A dieta controle levou a um maior consumo de CNF em relação aos tratamentos com gordura, uma vez que houve uma substituição parcial do milho moído presente na dieta pela gordura.

Animais que receberam SC tiveram maior consumo de CNF em comparação àqueles que receberam GS, fator que também pode ser explicado pela maior

substituição do milho moído, rico em CNF, pelo grão de soja. O tratamento com GS foi o que teve maior substituição do milho moído em relação aos demais tratamentos. No caso das digestibilidades aparentes totais de nutrientes, as digestibilidades da MS, MO e FDN foram maiores no tratamento controle em relação aos tratamentos com adição lipídica. Apesar dos tratamentos com fontes lipídicas diminuírem as digestibilidades da MS, MO e FDN, essa alteração não foi suficiente para interferir no consumo de MS, o que pode ser explicado pelo baixo desafio em que os animais foram submetidos, uma vez que os mesmos não estavam em produção. Já em relação ao EE, a digestibilidade do controle foi menor que os demais tratamentos. Não houve efeito nas digestibilidades de PB e CNF.

Os ácidos graxos poliinsaturados, presentes em grande parte das fontes lipídicas usadas na alimentação de ruminantes, possuem efeitos tóxicos às bactérias celulolíticas conforme Maia et al. (2007). Esse autor sugere que a toxicidade é mais pronunciada quando a fonte de gordura possui maior número de insaturações. Dessa maneira, suplementos lipídicos podem interferir de forma negativa sobre o coeficiente de digestibilidade da FDN, através da depressão na população de bactérias celulolíticas. Espera-se portanto, que fontes parcialmente inertes (gordura protegida) sejam menos prejudiciais à digestibilidade da fibra e ao consumo, o que não foi verificado no presente estudo, já que a gordura protegida também diminuiu a digestibilidade da FDN. Talvez o nível de proteção associado ao sais de cálcio de ácidos graxos insaturados advindos da soja, como é o caso do suplemento que foi utilizado no presente estudo, não seja tão alto como informado pelo fabricante. A digestão de sais de cálcio de AG comercialmente disponíveis deve começar no ambiente de baixo pH do abomaso. No entanto, o pKa 5,6 de sais de cálcio de soja encontra-se abaixo do limite inferior do pH do rúmen (SUKHIJA; PALMQUIST, 1990), o que pode ter sido preponderante para influenciar a digestibilidade da FDN, uma vez que houve dissociação dos sais de cálcio, com consequente liberação de ácidos graxos livres no ambiente ruminal.

O grau de insaturação é, provavelmente, a característica que mais influencia a digestão de lipídios (GRUMMER, 1995). Dessa forma, suplementos mais ricos em

ácidos graxos poliinsaturados tendem a proporcionar maior digestibilidade dos lipídios, o que explica os maiores valores de digestibilidade do EE observados nos tratamentos com a inclusão de ácidos graxos insaturados, quando comparados ao controle.

Avila et al. (2000) avaliaram os efeitos da gordura suplementar de fontes com diferentes proporções de ácidos graxos insaturados e saturados na digestão de nutrientes e desempenho. O consumo de matéria seca, a digestibilidade aparente total da matéria orgânica, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, PB e ácidos graxos foram semelhantes entre os tratamentos, assim como no presente estudo.

Bateman e Jenkins (1998) propuseram um estudo para determinar os efeitos da adição de óleo de soja para dietas de vacas secas recebendo 50 % de feno de capim bermuda sobre a fermentação ruminal e as concentrações de lipídios no rúmen. O óleo de soja foi adicionado à dieta a 0, 2, 4, 6, ou 8% da matéria seca da dieta. A adição de óleo de soja reduziu linearmente o CMS e consumo de matéria orgânica, mas aumentou a ingestão de ácidos graxos. O óleo de soja não teve efeito linear nem quadrático sobre a digestibilidade total da MS, matéria orgânica, N ou fibra em detergente neutro, mas diminuiu a digestibilidade de ácidos graxos. Estes dados indicam que grandes quantidades de óleo de soja podem ser fornecidas em dietas relativamente ricas em fibra, sem aumentar muito a concentração de ácidos graxos insaturados no rúmen ou deprimir a digestibilidade dos nutrientes, mas com diminuição do CMS e CMO. Já no presente estudo, não houve interferência no CMS, mas sim na digestibilidade da MS e FDN.

As concentrações elevadas de fibra favorecem as condições de crescimento rápido dos micro-organismos que são responsáveis pela hidrólise e hidrogenação de gordura dietética (JENKINS, 1993). Os autores afirmam que o alto teor de fibra das dietas podem ter promovido a hidrólise do OS a AG livres, os quais foram, em seguida, rapidamente saturados. Harfoot et al. (1974) propuseram que a ligação preferencial do AG em partículas de alimento diminuiu a depressão na fermentação causada por gorduras.

Os autores justificam que a digestão da celulose ocorre em velocidade mais lenta do que a digestão dos grãos de cereais (RUSSELL; WILSON, 1996). Por conseguinte,

as partículas de alimentos permaneceram mais tempo no rúmen quando maior teor de fibra na dieta foi fornecido. O alto teor de fibra das dietas poderia ter competido com sucesso para a ligação dos AG e os impediu de interferir na digestão ruminal da fibra.

O alto teor de fibra das dietas de Bateman e Jenkins (1998) reduziu problemas com a digestão ruminal da fibra, mas o CMS e a digestibilidade de AG ainda diminuíram com o aumento de óleo nas dietas.

Harvatine e Allen (2006b) observaram que digestibilidade total da FDN não foi diferente entre os tratamentos por causa da digestão pós-ruminal compensatória quando dietas com diferentes graus de saturação de gordura foram fornecidas, uma vez que a digestibilidade ruminal da FDN foi menor para dietas com alto índice de AG saturados. Efeitos associativos do AG pode mudar o local da digestão de nutrientes do rúmen para o intestino, possivelmente reduzindo a digestibilidade da dieta. Especificamente, AG diferem em seus efeitos hipofágicos (ALLEN, 2000); diminuição da ingestão pode diminuir a taxa de passagem ruminal permitindo maior digestibilidade ruminal.

De acordo com Schauff et al. (1992), o consumo de MS não foi afetada quando se ofereceu 15 a 20% da MS da dieta com grão de soja cru para vacas leiteiras em lactação. As digestibilidade de MS, MO, celulose e PB diminuíram quando a gordura foi adicionada às dietas, enquanto a digestibilidade da FDA, FDN e hemicelulose não foram alteradas.

Hess, Moss e Rule (2008), em uma revisão de literatura, analisou o resultado de vários trabalhos publicados durante 10 anos sobre suplementação de gordura para gado de corte e ovinos. Com a exceção de Brokaw, Hess e Rule (2001), a digestibilidade total da MO diminuiu em todos os trabalhos com adição de gordura para ruminantes que consomem dietas ricas em forragem. Semelhante ao resultado apresentado por Hess, Whitney e Rule (2001), em que a digestibilidade da MO foi diminuída em novilhas alimentadas com até 6,2% de óleo de milho, e a digestibilidade da FDN foi menor para as novilhas alimentadas com alto teor de óleo de milho em comparação às novilhas alimentadas com milho convencional. Os autores atribuíram a redução na digestibilidade total da FDN ao menor desaparecimento da FDN no rúmen

(HESS; WHITNEY; RULE, 2001; SCHOLLJEGERDES et al., 2004) e também no pós-rúmen (GOULD et al., 2000). Embora a suplementação de gordura diminui a digestibilidade da MO em comparação com suplementos isocalóricos à base de milho, a ingestão total de MO digerível por animais alimentados com gordura suplementar foi maior do que para os animais apenas consumindo forragem.

Já Atkinson et al. (2006), avaliou os efeitos de inclusão de até 9% da MS de óleo de cártamo em dietas de ovinos com alto concentrado (80%), e as digestibilidades ruminais e totais aparentes de MO, FDN e N não foram influenciadas pelo aumento óleo na dieta. Não era de se esperar uma alteração na extensão da fermentação da FDN porque a média de pH encontrado foi superior a 6,0, onde a digestão da celulose não é inibida (VAN SOEST, 1994).

Corroborando com o presente estudo, Bernard (1990) também observou maiores valores de digestibilidade do EE quando forneceu grão de soja cru e torrado para vacas em lactação. O aumento da digestibilidade aparente do EE para dietas contendo grão de soja foi aparentemente devido a uma maior ingestão de EE, aumento da concentração de ácidos graxos e redução nas perdas endógenas. Dietas convencionais contêm maiores quantidades de ceras, esteróis e terpenóides, que são mal digeridos e constituem uma grande parcela de perdas endógenas (PALMQUIST; CONRAD, 1978), em comparação com os ácidos graxos, que são de fácil digestão e compõem um percentual maior de EE na soja. Esse efeito pode ser extrapolado para as outras fontes de gordura usadas, como óleo de soja e sais de cálcio de ácidos graxos.

O incremento na digestibilidade do extrato etéreo observado no presente estudo nas dietas com adição de lipídios é semelhante aos resultados de Manso et al. (2006) e Pavan, Duckett e Andrae (2007). Coeficientes de digestibilidade superiores em animais suplementados com gordura podem ser atribuídos à maior digestibilidade da gordura adicionada em comparação aos ácidos graxos presente nas partículas de alimento; à diluição das perdas endógenas de lipídios; e à maior síntese de ácidos graxos no rúmen a partir de carboidratos em dietas com pouca quantidade de lipídios (CARVALHO, 2012).

Shriver, Palmquist e Kinsey (1985) relataram aumento da digestibilidade de ácidos graxos com adição de 1,1 e 2,2 kg / d de grão de soja; no entanto, uma queda abrupta na digestibilidade de ácidos graxos foi observada quando foram fornecidos 3,3 kg / dia do grão.

Morais et al. (2006) afirmaram que o fornecimento de lipídios para os ruminantes, geralmente provoca redução na digestibilidade da fibra, decréscimo na concentração de protozoários, aumento no conteúdo de ácidos graxos de cadeia curta e redução na produção de metano no rúmen, sendo que Onetti et al. (2001) admitiram serem os efeitos observados dependentes da quantidade, do perfil de ácidos graxos que compõem a fonte de lipídio, bem como da interação fonte x ingredientes da dieta basal. Esses efeitos podem ser decorrentes das reduções no crescimento de bactérias devido ao efeito ativo dos lipídios na superfície das membranas dos micro-organismos, principalmente bactérias gram-positivas e protozoários, inativando suas atividades (TAMMINGA; DOREAU, 1991); da reduzida disponibilidade de cátions pela formação de complexos insolúveis com ácidos graxos de cadeia longa; e do recobrimento físico da fibra com lipídios protegendo-a do ataque dos micro-organismos (HOBSON; STEWART, 1997; JENKINS; McGUIRE, 2006).

Venturelli (2011) incluiu grão de soja cru na dieta de vacas no final de lactação nas proporções de 9, 18 e 27 % da MS total, com relação volumoso:concentrado de 60:40. Houve redução no consumo de matéria seca e de carboidratos não fibrosos nas vacas suplementadas com a ração com 27% de grão de soja em relação às demais rações, que não diferiram entre si. Foi observado efeito linear crescente no consumo de extrato etéreo, onde os animais submetidos à dieta com 27% de grão de soja apresentaram maiores valores. Houve diferença na digestibilidade aparente total dos nutrientes entre as rações experimentais, sendo que as dietas com 18% e 27% de grão de soja apresentaram diminuição da digestibilidade dos carboidratos totais, em relação às dietas controle e com 9% de grão de soja. Não houve efeito sobre a digestibilidade de matéria seca e da matéria orgânica, consumo e digestibilidade da proteína bruta, consumo e digestibilidade da fibra detergente neutro, no consumo expresso em

porcentagem de peso vivo de fibra detergente neutro, matéria seca e nos nutrientes digestíveis totais sendo semelhantes entre as dietas experimentais.

Gandra (2012) avaliou fontes de ômega 6 e 3 no período pré-parto de vacas em dietas com relação volumoso:concentrado de aproximadamente 70:30 e obteve valores de consumo semelhantes ao presente estudo (CMS em torno de 12kg/dia), e ainda observou efeito de dieta para o consumo de matéria seca, orgânica, EE e CNF (kg/dia). O consumo de EE foi maior nas dietas onde foi adicionada a fonte de gordura. O autor explica que houve um consumo médio superior de 200 g/dia ou 31,66% de EE, quando foram comparadas as dietas suplementadas em relação a controle. Já no presente estudo as vacas que receberam suplementação consumiram em média aproximadamente 420 g/dia a mais de EE, o que culminou em maior consumo.

Em relação ao consumo de CNF, Gandra (2012) observou um consumo superior em torno de 16,27% para a dieta controle em relação às dietas suplementadas com fontes de ácidos graxos. Esses resultados foram justificados pelo autor como consequência das concentrações dos nutrientes nas dietas, em que o teor de extrato etéreo e carboidratos não fibrosos estão em coerência com os resultados obtidos, o que também aconteceu com o atual estudo, no qual houve um aumento de 12,53% do consumo de CNF em relação às demais dietas.

A dieta controle usada no presente estudo contém em média 3,25 unidades percentuais a mais de CNF e 2,76 unidades percentuais a menos de EE quando comparadas com as dietas com suplementação, o que pode ter contribuído para o efeito significativo observado nos consumos de EE e CNF.

Já quando compara-se o tratamento grão de soja com sais de cálcio também é possível verificar uma diferença no teor de CNF de 1,55 unidades percentuais, o que explica o maior consumo de CNF em vacas que receberam SC (3,73 vs 4,11 kg/dia).

De acordo com Palmquist (1988), o efeito dos ácidos graxos sobre a degradabilidade ruminal de nutrientes pode ser minimizado se a dieta contiver alta quantidade de volumoso, devido principalmente à capacidade da forragem em manter o funcionamento normal do rúmen, entretanto, mesmo usando no presente estudo uma

relação volumoso:concentrado de 80:20, houve alteração da digestibilidade de MS e FDN, porém sem a diminuição do consumo.

Doreau, Aurousseau e Martin (2009) avaliaram a digestibilidade ruminal e intestinal em vacas leiteiras secas, onde as dietas foram suplementadas com semente de linhaça, sendo a relação volumoso concentrado de 70:30. Os autores não observaram diferenças no CDMS e CDMO quando compararam as dietas suplementadas com semente de linhaça à dieta controle.

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

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

Freitas Jr. (2012) avaliou os mesmos tratamentos que o presente estudo, mas no terço médio de lactação, utilizando 55% de silagem de milho nas dietas. Não houve diferença para os consumos de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, carboidratos totais e carboidratos não fibrosos entre as dietas. No entanto, os animais submetidos às dietas com fontes adicionais de gordura também apresentaram maior consumo de extrato etéreo. Além disso, como o resultado de consumo consiste basicamente em uma combinação da concentração do nutriente da dieta pela quantidade de matéria seca consumida, esse resultado foi atribuído pelo autor à ausência de diferença no consumo de matéria seca entre as dietas experimentais. As

vacas alimentadas com a dieta contendo grão de soja apresentaram maior consumo de fibra em detergente neutro quando comparada aos animais submetidos à dieta com sais de cálcio de ácidos graxos. Esse resultado também pode ser justificado devido à maior concentração deste nutriente na dieta com grão de soja, mas que não foi verificado no presente estudo devido possivelmente à menor participação do concentrado na dieta, levando a um efeito diluidor do nutriente. De forma semelhante não houve diferença para o consumo de matéria seca e fibra em detergente neutro em porcentagem do peso corporal.

Freitas Jr. (2012), entretanto, não observou diferença na digestibilidade aparente total da matéria seca, proteína bruta, carboidratos totais e fibra em detergente neutro. Apesar de alguns estudos terem avaliado o uso do GS como fonte de gordura para vacas leiteiras e não terem verificado redução do consumo de matéria seca e desempenho dos animais suplementados, é preciso enfatizar que o período de adaptação e a aceitabilidade da fonte de gordura também têm influência direta sobre a redução no consumo de vacas leiteiras quando se usa o grão de soja como fonte de gordura (STAPLES; THATCHER; MATTOS, 2001). Em alguns casos foram observados até o aumento do consumo de matéria seca, sendo esses resultados atribuídos ao baixo incremento calórico da gordura em períodos de estresse calórico, ou pela redução na produção de propionato quando a fonte de gordura substituiu grãos nas rações (NRC, 2001).

Os efeitos no consumo de MS com a inclusão de lipídios na dieta pode ser atribuído ao aumento da concentração sérica de ácidos graxos insaturados que ativam receptores do centro da saciedade localizados no hipotálamo, inibindo o apetite e reduzindo o consumo (ALLEN, 2000). Deste modo, fontes que contêm maiores concentrações de AG insaturados seriam mais prejudiciais ao consumo enquanto fontes mais saturadas causariam menos efeitos.

4.2 Fermentação ruminal

Os resultados referentes à fermentação ruminal são apresentados na Tabela 6. Os animais alimentados com a dieta contendo sais de cálcio apresentaram maior valor de pH ruminal em relação aos animais submetidos às dietas contendo grão de soja ($P < 0,05$). Entretanto não houve diferença para os valores de pH ruminal entre a dieta controle e as com fontes de gordura, e entre a dieta contendo óleo de soja e as dietas com grão de soja ou sais de cálcio ($P > 0,05$) e os valores encontrados de pH para todos os tratamentos estavam entre 5,9 a 7,0, dentro do intervalo considerado normal para otimização da taxa de digestão ruminal e da degradação da parede celular da fibra, sugeridas por Furlan et al. (2006).

O pH é um importante item no que diz respeito à modulação da fermentação ruminal. Um menor pH pode ser indicativo de diminuição na proporção molar de acetato, além de poder indicar declínio na população de bactérias celulolíticas produtoras de ácido acético (BOKEN et al., 2005). Assim como Boken et al. (2005), outros pesquisadores como Bateman e Jenkins (1998) e Abel-Caines et al. (1998) verificaram diminuição no pH ruminal quando dietas de vacas em lactação eram acrescidas de suplementos lipídicos, nesses estudos a fonte avaliada era principalmente o óleo de soja, com adição de 4% (ABEL-CAINES et al. 1998), ou até 8% da dieta total (BATEMAN; JENKINS, 1998), ou subprodutos provenientes da soja, com predominância do ácido linoleico na sua composição (BOKEN et al., 2005). Em contrapartida, Avila et al. (2000) e Harvantine e Allen (2006a), avaliando dietas para vacas em lactação com as mais diversas fontes lipídicas saturadas, insaturadas e mistura de ambas, obtiveram resultados que corroboram com os da Tabela 6, ou seja, suplementos lipídicos não alteraram os valores de pH ruminal quando comparados à dieta controle. Machado (2012), avaliando dietas para vacas em lactação com fontes lipídicas similares aos apresentados no presente estudo, com 55% de silagem de milho, também não observou diferenças no pH. Outro fator que também contribuiu para a manutenção do pH é o consumo relativamente baixo de concentrado da categoria animal que foi avaliada no presente estudo, em que vacas secas consumiram grande

proporção de volumoso com baixa ingestão de matéria seca, sendo assim as condições ruminais favoráveis se mantiveram relativamente constantes mesmo com diferentes dietas. Houve efeito dos horários de coleta após alimentação, sobre os valores de pH ruminal. Esse comportamento já é esperado visto que quando ocorre o aumento do consumo de alimentos após o tempo zero de coleta, ocorre simultaneamente o aumento da fermentação ruminal pela maior disponibilidade de substrato usado para a fermentação ruminal, causando dessa forma redução dos valores de pH. Esse comportamento pode ser observado na Figura 1.

Tabela 6 – Efeito das dietas sobre os parâmetros de fermentação ruminal

Item	Dietas experimentais ¹				EPM ²	Valor de P					
	C	OS	GS	SC		Trat	Tempo	Inter*	C1	C2	C3
pH	6,15	6,14	6,08	6,25	0,03	0,039	<0,001	0,418	0,898	0,548	0,005
N-NH ₃ mg/dL	20,39	17,76	15,30	19,42	0,51	0,021	<0,001	<0,001	0,034	0,771	0,016
mmol											
Total AGCC ³	160,34	157,13	154,57	159,56	1,88	0,464	<0,001	0,738	0,320	0,987	0,215
Acetato	117,06	111,07	111,17	117,07	1,43	0,053	<0,001	0,878	0,102	0,229	0,048
Propionato	28,40	32,25	29,23	28,84	0,38	0,020	<0,001	0,207	0,100	0,006	0,749
Butirato	14,88	13,81	14,18	14,44	0,20	0,397	0,001	0,766	0,165	0,364	0,676
Total AGCC, %											
Acetato	72,94	70,75	71,73	73,00	0,14	<0,001	<0,001	0,123	0,005	<0,001	0,008
Propionato	17,78	20,49	19,06	18,02	0,14	<0,001	<0,001	0,168	0,001	<0,001	0,028
Butirato	9,28	8,76	9,21	8,70	0,06	0,388	<0,001	0,378	0,283	0,243	0,482
C2:C3	4,13	3,51	3,81	4,10	0,04	<0,001	<0,001	0,116	<0,001	<0,001	0,008

¹Controle (C); óleo de soja (OS); grão de soja (GS); sais de cálcio de ácidos graxos (SC), (Megalac-E®). C1= controle versus fontes de gordura (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos); C2= óleo de soja versus sais de cálcio e grão de soja; C3= grão de soja versus sais de cálcio. ²Erro padrão da média; ³ácidos graxos de cadeia curta.

Através de uma meta-análise, Schmidely et al. (2008) relataram que o pH ruminal não foi afetado pelo consumo de AG ou pela fonte de lipídio adicionado. Outros estudos (SILVA et al., 2007; SHINGFIELD et al., 2010; TORAL et al., 2010) também não observaram mudanças no pH ruminal com a adição de lipídios na dieta. O pH ruminal é influenciado principalmente pela produção de saliva (RIVERA et al., 2010) e, por isso, animais alimentados com dietas contendo elevada porcentagem de alimentos volumosos, como foi o caso do presente estudo, em que os animais receberam 80 % de silagem de milho, normalmente apresentam pH ruminal sempre próximo à neutralidade, em virtude do maior estímulo de produção de saliva durante os processos de ingestão e

regurgitação dos alimentos. Pode-se afirmar que neste caso, os efeitos da suplementação lipídica sobre o pH foram pouco expressivos.

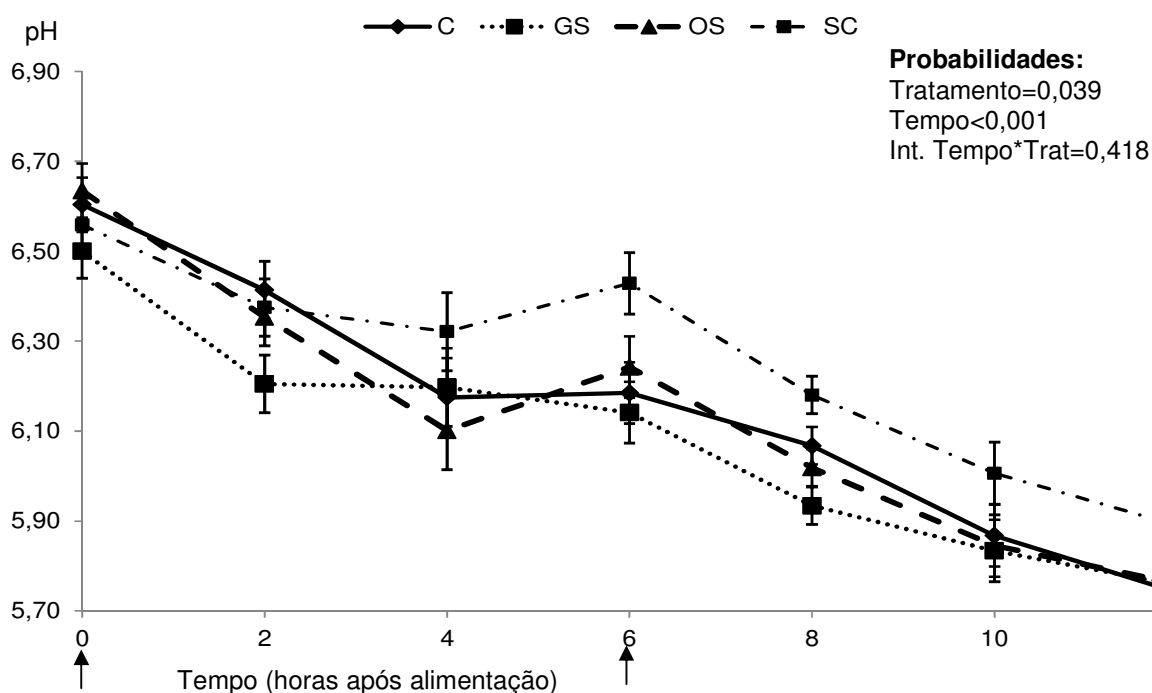


Figura 1 - pH ruminal em diferentes tempos após o fornecimento da alimentação matinal de vacas da raça Holandesa, alimentadas com dietas contendo ou não suplementos lipídicos
 (↑) Horário de fornecimento da alimentação

A concentração de N-NH_3 (Tabela 6) foi maior ($P<0,05$) para os animais que receberam a dieta controle em relação às dietas com inclusão de gordura. A inibição no acúmulo de amônia pelas fontes de gordura está relacionada ao efeito depressor dos lipídios insaturados sobre a população de bactérias gram positivas fermentadoras obrigatórias de aminoácidos, para suprir suas necessidades energéticas e proteicas (CHEN; RUSSELL, 1989). Também houve diferença no contraste 3, em que os animais que receberam sais de cálcio apresentaram um maior valor de N-NH_3 em relação àqueles que receberam grão de soja. Estes resultados são esperados devido à menor inclusão de ureia no tratamento com grão de soja em relação aos sais de cálcio (0,32% vs 1,13% de ureia na dieta total, respectivamente). Esse procedimento foi realizado exclusivamente para garantir o correto balanceamento e a manutenção da relação PDR

e PNDR entre as dietas. A menor inclusão de ureia no tratamento grão de soja também pode ser considerado um fator importante que possibilitou maior diferença entre tratamentos no contraste. As concentrações ruminiais de nitrogênio amoniacal em diferentes tempos estão representadas na Figura 2.

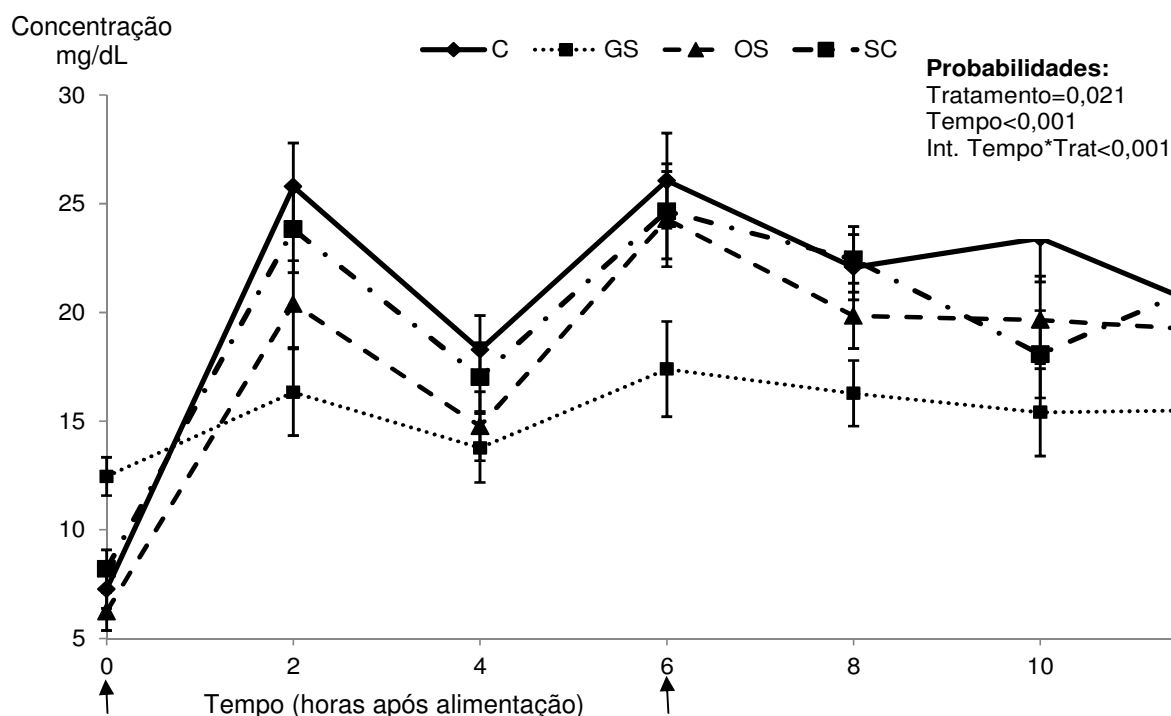


Figura 2 - Concentrações ruminiais de N-NH₃ em diferentes tempos após o fornecimento da alimentação matinal de vacas da raça Holandesa, alimentadas com dietas contendo ou não suplementos lipídicos (↑) Horário de fornecimento da alimentação

Apesar das dietas conterem a mesma relação PDR:PNDR, o grão de soja integral é uma fonte proteica mais resistente à degradação ruminal do que a ureia, proporcionando níveis menores de N-NH₃. Por outro lado, o excesso de amônia no rúmen não é desejável, visto que pode causar perdas de N através da urina e gastos energéticos durante sua metabolização no fígado (VAN SOEST, 1994).

O suprimento de níveis adequados de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) é fundamental na otimização dos processos fermentativos. Neste estudo, a quantidade de NAR permaneceu, de maneira geral, acima do nível ótimo de 10mg/dL recomendado por Leng (1990) e Sampaio et al. (2010), onde não há diminuição da disponibilidade de

nitrogênio para os microrganismos, o que comprometeria significativamente a ingestão e digestibilidade da fibra.

Não houve efeito ($P>0,05$) das fontes de gordura nas dietas sobre as concentrações molares dos ácidos graxos de cadeia curta totais e butirato (Tabela 6). Porém houve efeito de tempo para esses parâmetros avaliados ($P<0,001$). Os comportamentos das concentrações molares de acetato, propionato, butirato e AGCC totais ao longo do tempo podem ser observados nas Figuras 3, 4, 5 e 6, respectivamente.

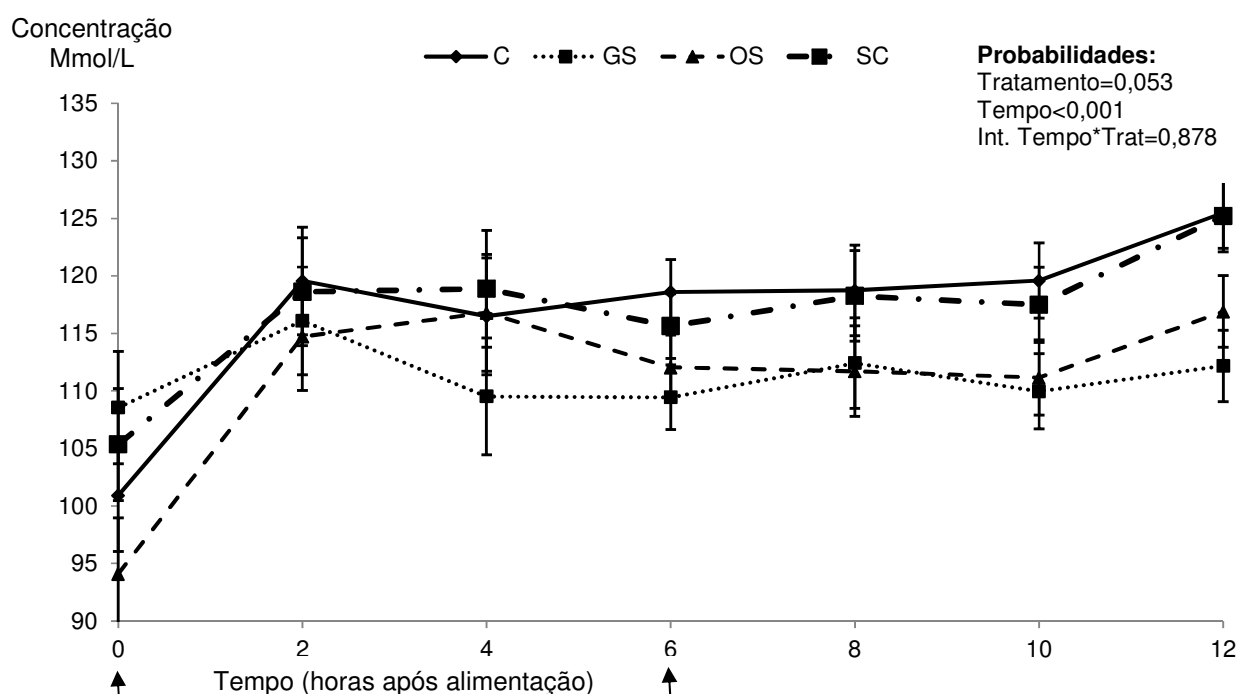


Figura 3 - Concentrações ruminais de acetato em diferentes tempos após o fornecimento da alimentação matinal de vacas da raça Holandesa, alimentadas com dietas contendo ou não suplementos lipídicos (↑) Horário de fornecimento da alimentação

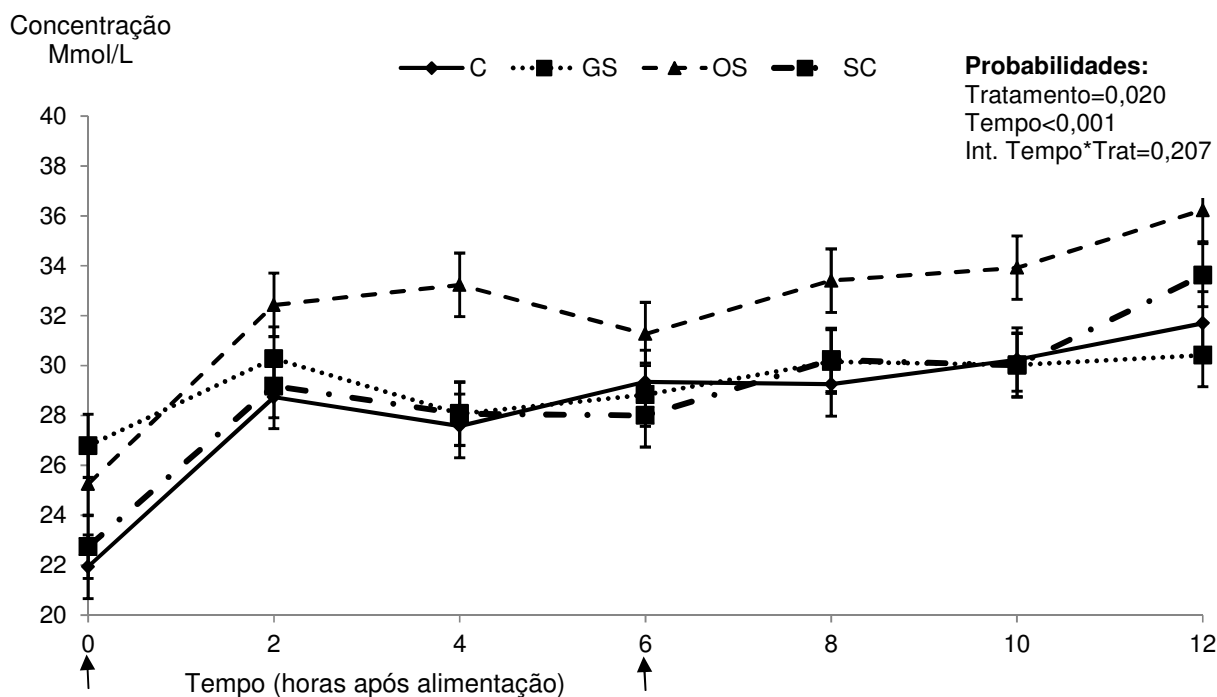


Figura 4 - Concentrações ruminiais de propionato em diferentes tempos após o fornecimento da alimentação matinal de vacas da raça Holandesa, alimentadas com dietas contendo ou não suplementos lipídicos

(↑) Horário de fornecimento da alimentação

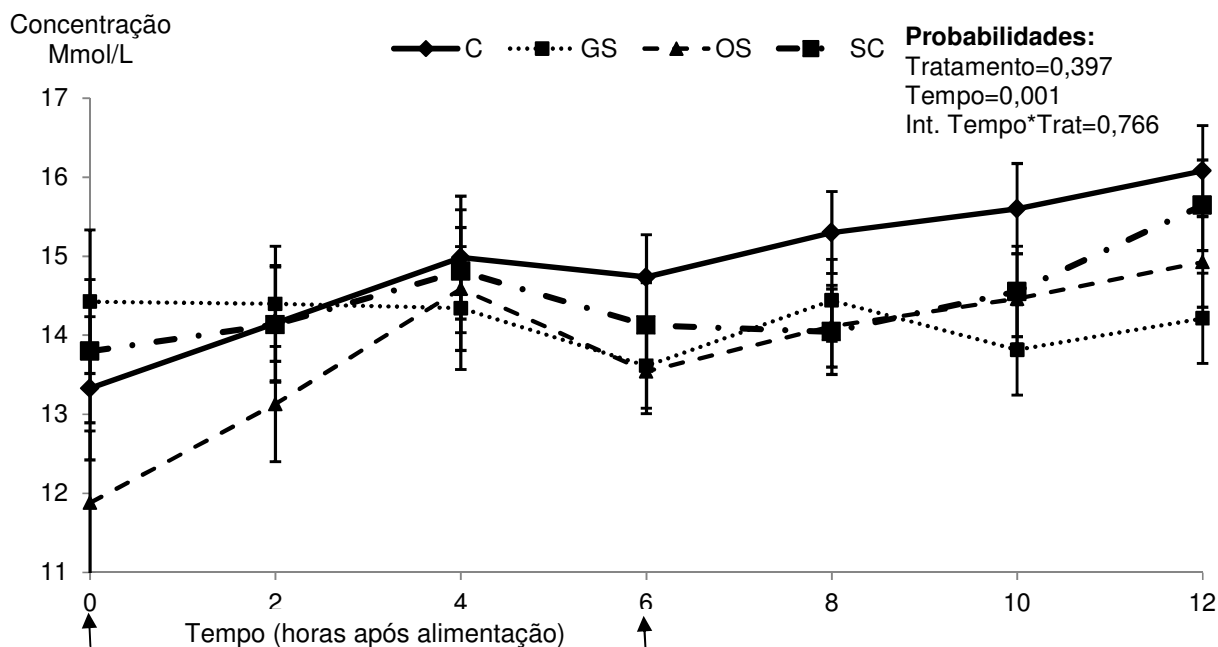


Figura 5 - Concentrações ruminiais de butirato em diferentes tempos após o fornecimento da alimentação matinal de vacas da raça Holandesa, alimentadas com dietas contendo ou não suplementos lipídicos

(↑) Horário de fornecimento da alimentação

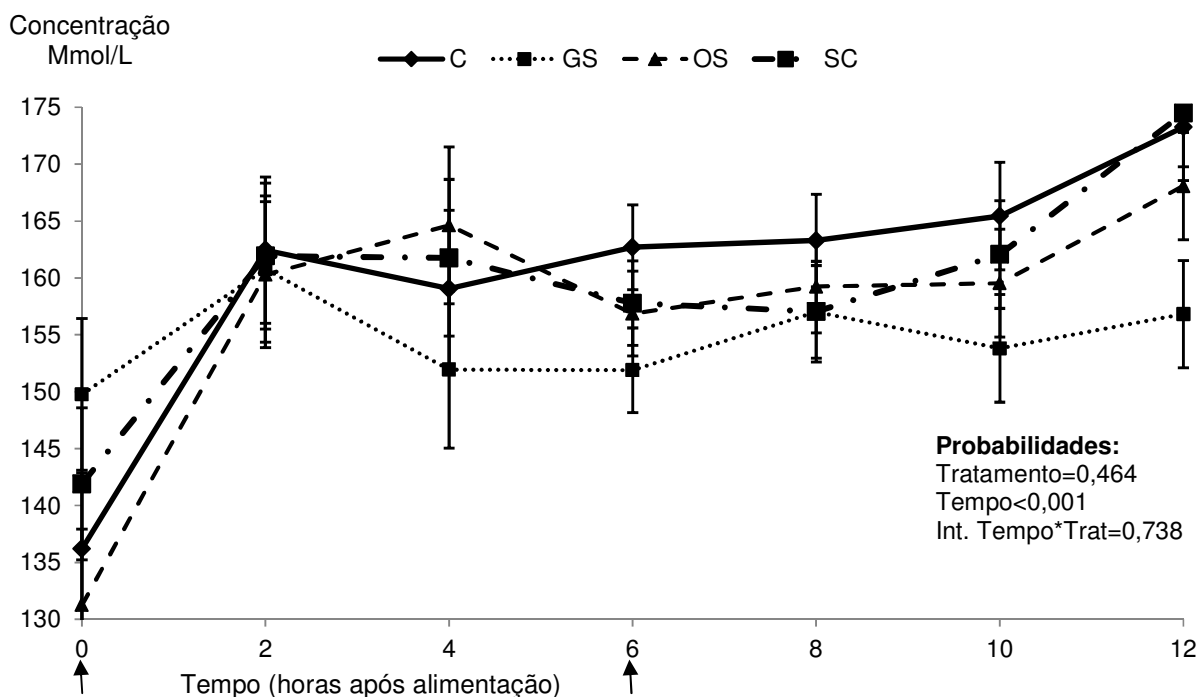


Figura 6 - Concentrações ruminais de ácidos graxos de cadeia curta em diferentes tempos após o fornecimento da alimentação matinal de vacas da raça Holandesa, alimentadas com dietas contendo ou não suplementos lipídicos

(↑) Horário de fornecimento da alimentação

Ao analisar o contraste 2, observa-se que os valores de propionato foram maiores para o óleo de soja em relação às demais fontes de gordura em 11,07%. Já em relação à concentração de acetato, animais submetidos às dietas contendo sais de cálcio tiveram valores 5,3% maiores de acetato quando comparados aos que receberam grão de soja.

Quando se compara os valores em termos de porcentagem de AGCC, as respostas também apresentam algumas diferenças. Houve efeito significativo ($P < 0,05$) em todos os contrastes para as porcentagens de acetato e propionato, porém o butirato permaneceu semelhante entre os tratamentos. A dieta controle apresentou os menores valores de propionato (17,78%) em relação às fontes de gordura. Já o óleo apresentou os maiores valores (20,49%), seguido pelo grão de soja (19,06%) e sais de cálcio (18,02%). A porcentagens de acetato foram maiores na dieta controle (72,94) em relação aos demais tratamentos com gordura (71,83%). O óleo foi o tratamento com

menor participação do acetato (70,75%) em porcentagem do total de AGCC, seguido pelo grão de soja (71,73%) e sais de cálcio (73%).

De acordo com os resultados mostrados acima, houve efeito no aumento da relação acetato:propionato (C2/C3) no tratamento controle (4,11), devido ao menor valor de propionato e maior valor de acetato em porcentagens observados. Além disso, pode-se observar efeitos nos contrastes 2 e 3, em que o óleo teve a menor relação (3,51), seguido pelo grão de soja (3,81) e sais de cálcio (4,10). A alteração da concentração de acetato:propionato observada com o fornecimento de lipídios, inferior à obtida com a dieta controle, se deve ao efeito indireto dos ácidos graxos, que reduz a população de bactérias fibrolíticas, que produzem principalmente acetato, liberando hidrogênio. Desta forma, há possivelmente uma melhora da eficiência do metabolismo energético, alterando as proporções dos ácidos graxos produzidos no rúmen com uma possível diminuição da perda de energia na forma de metano. Esse efeito foi mais acentuado na dieta com óleo de soja, em que os ácidos graxos estão mais disponíveis no ambiente ruminal. Um possível favorecimento às bactérias fermentadoras de carboidratos não fibrosos, provocado por uma possível mudança no ambiente ruminal de vacas suplementadas com lipídio, poderia provocar maiores proporções de ácido propiônico em relação ao ácido acético, efeito que foi observado neste estudo.

Machado (2012) avaliou 4 dietas com adição de ácidos graxos insaturados e uma controle para vacas primíparas no terço médio de lactação. O autor justifica a ausência de resultados significativos obtidos para as concentrações ruminais e proporções dos ácidos graxos voláteis por causa da digestibilidade dos carboidratos e produção microbiana, que não foram afetadas pelos tratamentos com adição de lipídios, mantendo padrões fermentativos equivalentes entre todos os tratamentos.

Avila et al. (2000) e Vargas et al. (2002), da mesma maneira também não detectaram diferença nas proporções molares dos ácidos acético, propiônico e butírico, assim como nas relações acetato/propionato, independentemente dos tipos e perfis dos lipídios contidos nas dietas dos animais. Por outro lado, Boken et al. (2005) e Harvantine e Allen (2006b), verificaram aumento de propionato e diminuição de acetato nas porcentagens molares, no ambiente ruminal de vacas suplementadas com lipídios,

enquanto as proporções de butirato permaneceram inalteradas, exatamente como ocorreu no presente estudo. Esses resultados contraditórios entre esses estudos podem ser devido a diferenças nos padrões de alimentação de animais avaliados ou tempos de amostragem de líquido ruminal.

Bateman e Jenkins (1998) determinaram os efeitos da adição de óleo de soja para dietas de alta fibra sobre a fermentação ruminal e as concentrações de lipídios no rúmen. O óleo de soja foi adicionado à dieta a 0, 2, 4, 6, ou 8% de matéria seca da dieta. A adição de óleo de soja reduziu a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta. Além disso, a adição de OS às dietas resultou em reduções lineares em proporções molares de acetato e aumentos lineares em proporções molares de propionato. Portanto, a relação acetato:propionato diminuiu linearmente quando OS foi adicionado às dietas, indicando que o óleo afeta a fermentação ruminal da fibra. Esse mesmo efeito ocorreu nas dietas com fontes de gordura do presente estudo, em que a relação acetato:propionato foi menor em relação ao controle, resultado justificado ainda pela diminuição observada na digestibilidade da FDN nas dietas com lipídios.

Embora a gordura na dieta interfira na fermentação ruminal, os efeitos parecem ser diminuídos em dietas ricas em fibra. Bateman e Jenkins (1998) relataram aumentos na relação acetato:propionato quando a gordura foi adicionada à dietas com alto teor de FDN e diminuição em dietas com FDN baixo. Além disso, os autores afirmaram que poucos dados estão disponíveis para descrever os efeitos de altas concentrações de gordura na dieta sobre a fermentação ruminal quando dietas de alta fibra são fornecidas.

Keele, Roffler e Beyers (1989) relataram que evidências circunstanciais indicam que o aumento do ácido propiônico ruminal e o decréscimo em ácido butírico ruminal com o aumento da ingestão de ácidos graxos de cadeia longa pode ter sido causada por uma redução no número de protozoários no rúmen. Esse mesmo comportamento foi observado por Tamminga et al. (1983) e Pena, Tagari e Satter (1986).

Jouany et al. (1981) observaram um aumento na concentração de ácido propiônico ruminal, uma diminuição na concentração de ácido butírico e nenhuma alteração na concentração de ácido acético quando carneiros foram defaunados. A

concentração de N-NH_3 foi maior para os animais alimentados com altos níveis de semente oleaginosas, e semelhante quando as vacas foram alimentadas com caroço de algodão ou soja extrusada (KEELE; ROFFLER; BEYERS, 1989).

Schauff et al. (1992), testando soja integral e/ou sebo bovino em dietas para vacas em lactação, observaram que a proporção molar de acetato e a relação acetato:propionato tenderam a decrescer nas dietas contendo lipídio. Resultados similares foram encontrados por Stern, Santos e Satter (1985), quando soja integral foi fornecida para vacas em lactação, e por Storry, Hall e Johnson (1973) e Palmquist e Conrad (1978). Quando o grão de soja é oferecido a menos de 12% da MS da dieta, não são esperados efeitos negativos sobre a fermentação ruminal (SCHAUFF et al., 1992).

Mohamed et al. (1988) não detectaram efeitos significativos no pH ruminal quando forneceram óleos ou sementes oleaginosas (soja e algodão) para vacas em lactação. A concentração de amônia ruminal tendeu a ser menor quando foram fornecidas óleo de soja, grão de soja cru ou torrado em relação à dieta controle. A proporção de acetato não foi diferente entre as dietas, mas a percentagem de propionato foi mais elevada e a de butirato quando o óleo livre foi adicionado. A relação acetato:propionato foi menor quando se forneceu o óleo livre ou semente crua integral, mas não foi diferente quando as sementes foram torradas. Redução na digestão de fibra (HENDERSON, 1973) e diminuição do número de bactérias metanogênicas (CZERKAWSKY; BLAXTER; WAINMAN, 1966) com a adição de lipídios são provavelmente responsáveis pela redução na relação acetato:propionato (MOHAMED et al., 1988). O número de protozoários também diminuiu com a adição de óleo ou sementes integrais na dieta, que foi consistente com a redução da relação acetato:propionato, aumento na relação propionato:butirato e redução na digestibilidade da MS que foram observados.

Atkinson et al. (2006) sugerem que quando o pH médio é superior a 6,0, a extensão da fermentação da MO e da FDN não é afetada por níveis crescentes de óleo de cártamo na dieta. As concentrações ruminiais totais de AGV não foram influenciadas pelo aumento do óleo de cártamo. Uma diminuição linear na proporção molar de

acetato, juntamente com um aumento linear na proporção molar de propionato foi observado com o aumento do óleo de cártamo. As alterações nas proporções molares de acetato e propionato resultaram numa diminuição linear da relação acetato:propionato.

Kucuk et al. (2001), não observaram alteração na relação acetato:propionato nem quando ocorreu aumento na proporção de propionato com o aumento do óleo de soja na dieta. O aumento da proporção de propionato observado no presente estudo, mais evidenciado no tratamento com óleo de soja, pode ter resultado do aumento da disponibilidade de glicerol a partir da lipólise no rúmen, que é rapidamente convertido em propionato no rúmen (CHALUPA et al., 1986).

Jenkins (1993) observou que dietas com alta relação volumoso:concentrado podem promover menor efeito dos lipídios sobre a fermentação ruminal, pois alta concentração de fibra promove condições ideais para o rápido crescimento de micro-organismos responsáveis pela hidrólise e bio-hidrogenação dos lipídios. No entanto, com dietas ricas em forragens, a microbiota ruminal estará com maior proporção de bactérias celulolíticas, que são as mais susceptíveis aos efeitos tóxicos principalmente dos ácidos graxos insaturados.

Barletta (2010) observou uma queda na produção de $N-NH_3$ sendo atribuído com a menor inclusão de ureia e as fontes de gordura não serem as fontes de energia das bactérias ruminais. A produção de ácidos graxos voláteis foi menor à medida que aumentava a inclusão de grão de soja nas dietas. Naves (2010) observou resultado semelhante a Barletta (2010) sobre os ácidos graxos voláteis, mas não ocorreu diminuição na concentração de $N-NH_3$, sendo que a inclusão de grão de soja nas dietas foi constante apenas alterando a forma de apresentação. Esses autores não observaram efeito das rações utilizadas nos valores de pH ruminal e a concentração de nitrogênio amoniacal ruminal foi maior para as vacas que receberam a dieta controle em relação às dietas com grão de soja.

Venturelli (2011) também encontrou concentrações de $N-NH_3$ maiores para os animais que receberam a dieta controle em relação as dietas com inclusão do grão de soja. Esse autor ainda observou efeito linear decrescente para as concentrações

mmol/L de ácido acético, propiônico e butírico e na concentração molar do ácido butírico. Estes resultados podem ser explicados pelo efeito depressor dos lipídios sobre as bactérias ruminais. Além de serem animais no final de lactação com uma taxa de passagem menor, os lipídios não são fontes de energia para o crescimento microbiano. Venturelli (2011) relata que a inclusão de até 18% de grão de soja integral nas rações não influenciaram a fermentação ruminal de vacas em final de lactação.

Freitas Jr. (2012) não encontrou diferença para os valores de pH ruminal entre a dieta controle e as com fontes de gordura. As dietas contendo fontes de gordura promoveram menores concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH_3) em relação à dieta controle, assim como no presente estudo. O autor também não observou efeito das fontes de gordura nas dietas sobre as concentrações dos ácidos graxos de cadeia curta totais, acetato, propionato, em proporção molar. Porém houve redução para as concentrações do ácido butírico para as vacas alimentadas com fontes de gordura. Houve aumento das concentrações de acetato em porcentagem do total de ácidos graxos de cadeia curta para as vacas alimentadas com a dieta contendo sais de cálcio de ácidos graxos, em relação à dieta com grão de soja, resultados semelhantes aos apresentados neste estudo.

Não existe um consenso na literatura sobre os efeitos da inclusão de lipídios na concentração de NAR, havendo relatos de diminuição (WANAPAT et al., 2011), aumento (HOMEM JR. et al., 2010) e ausência de efeitos (TORAL et al, 2010; SHINGFIELD et al, 2010) na quantidade de N ruminal como consequência da adição de ácidos graxos na dieta. Isso ocorre porque há uma grande variação entre os estudos que avaliam lipídios na dieta de vacas, sendo esses realizados em condições diferentes de dietas, com diferentes fontes e teores de volumosos, com fontes lipídicas muito variadas, diversos níveis de inclusão e o estado fisiológico dos animais avaliados nem sempre é o mesmo. Toda essa variação implica em uma resposta animal específica, de acordo com as condições em que esses animais são submetidos, uma vez que vários fatores estão envolvidos na fermentação e metabolismo animal.

4.3 Síntese de proteína microbiana

Na Tabela 7 são apresentados os resultados da síntese de proteína microbiana. Não foi verificado nenhum efeito significativo nos parâmetros alantoína na urina, ácido úrico, purinas totais, derivados de purinas, purinas absorvíveis, excreção total de urina, nitrogênio microbiano, proteína bruta microbiana e eficiência (gramas de PB microbiana/kg de NDT consumido). Embora sem efeito, os tratamentos com gordura tiveram valores médios de produção de PB microbiana e eficiência maiores que o tratamento controle, sendo que o tratamento com óleo de soja apresentou valores numéricos ainda mais elevados que os demais tratamentos (849,97 g/dia de PB microbiana vs 610,38 g/dia de PB microbiana do tratamento controle), esses valores, mesmo sem diferença estatística, devido à grande variação dos parâmetros avaliados, devem ser considerados, já que frequentemente, o fornecimento de óleos vegetais acarreta aumentos na eficiência de síntese microbiana, não pelo aumento de energia fermentável no rúmen, mas pela menor predação devido ao efeito defaunatório mais eminente do óleo (DEWHURST; DAVIES; MERRY, 2000).

Oldick e Firkins (2000) citam que embora os AG forneçam pouca energia para o crescimento microbiano (WU; OHAJURUKA; PALMQUIST, 1991), a gordura suplementar normalmente não diminui o fluxo de N microbiano para o duodeno (STERN et al., 1994; DOREAU; FERLAY, 1995), porque a eficiência da síntese de proteína microbiana aumenta quando a gordura é fornecida (STERN et al., 1994) ou com o aumento da insaturação de gorduras (PANTOJA et al., 1994). No entanto, a eficiência de síntese de proteína microbiana não foi afetada pela gordura suplementar em alguns estudos (ALDRICH et al., 1997; ELLIOTT et al., 1997). A eficiência microbiana parece ser aumentada por causa da gordura pela redução das contagens e predação de protozoários (STERN et al., 1994.).

Doreau e Chilliard (1997) também relataram efeito defaunatório sobre os protozoários quando gorduras insaturadas são adicionadas às dietas, principalmente as ricas em ácido linoleico e linolênico. A consequência principal da defaunação é a queda na concentração de amônia no rúmen, decorrente da redução da atividade proteolítica

dos protozoários (DOREAU; FARLEY, 1995), e está associado a uma importante queda na reciclagem de N bacteriano no rúmen (MORAIS et al., 2006), isto é, ocorre o aumento no número de bactérias gram-negativas. Esse efeito foi observado no presente estudo, em que a concentração de amônia foi maior para o tratamento controle em relação aos demais (Tabela 6. Tais efeitos, portanto, contribuem para o aumento na eficiência de síntese de proteína microbiana, quando lipídios são suplementados aos ruminantes (VAN SOEST, 1994; DOREAU; FERLAY, 1995). A técnica de determinação de derivados de purina para estimar a síntese microbiana assume que todos os ácidos nucléicos de origem dietética são degradados no rúmen e que, portanto, todos os ácidos nucléicos que deixam o rúmen são essencialmente de origem microbiana (SERRANO et al., 2011). Segundo Chen e Gomes (1992) a excreção de derivados de purina é diretamente proporcional à absorção de purinas. Dessa forma, a partir do conhecimento da relação entre N das purinas e N total dos micro-organismos ruminais, obtêm-se a síntese de proteína microbiana.

Tabela 7 – Síntese de proteína microbiana de acordo com as dietas experimentais

Item	Dietas experimentais ¹				EPM ²	Valor de P		
	C	OS	GS	SC		C1	C2	C3
	Mmol/L							
Al-Urina ³	11,37	14,51	12,20	12,94	0,75	0,209	0,324	0,377
Ác. Úrico	1,63	2,03	1,78	1,92	0,12	0,234	0,429	0,699
	Mmol/dia							
Al-Urina	143,11	182,27	147,19	156,56	9,96	0,322	0,274	0,273
Ác. Úrico	20,12	26,01	21,19	24,16	1,63	0,302	0,301	0,667
PT ⁴	163,23	208,28	168,38	180,72	10,71	0,275	0,235	0,277
DP ⁵	49,09	49,29	49,00	49,14	0,72	0,854	0,480	0,672
Pabs ⁶	134,28	187,05	140,45	154,80	12,39	0,275	0,238	0,278
ALA: PT (%)	87,67	87,51	87,42	86,63	0,74	0,927	0,883	0,733
ETU ⁷ (L/dia)	12,24	12,69	12,41	12,31	0,42	0,782	0,918	0,701
Nmic ⁸ (g/dia)	97,63	135,99	102,11	112,55	9,01	0,275	0,238	0,278
PB mic ⁹ (g/dia)	610,38	849,97	638,20	703,43	56,31	0,275	0,238	0,278
Eficiência ¹⁰	73,14	98,88	77,93	83,02	6,90	0,316	0,359	0,334

¹ Controle (C); óleo de soja (OS); grão de soja (GS); sais de cálcio de ácidos graxos (SC), (Megalac-E®). C1= controle versus fontes de gordura (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos); C2= óleo de soja versus sais de cálcio e grão de soja; C3= grão de soja versus sais de cálcio. ²Erro padrão da média; ³alantoína na urina; ⁴purinas totais; ⁵derivados de purinas; ⁶purinas absorvíveis; ⁷excreção total de urina; ⁸nitrogênio microbiano; ⁹proteína bruta microbiana; ¹⁰gramas de PB microbiana/kg de NDT consumido.

Venturelli (2011) avaliou o efeito da inclusão de grão de soja cru integral na dieta de vacas em final de lactação em até 27% da MS total. Não houve diferença nas excreções diárias em Mmol/L e Mmol/dia de alantoína na urina e no leite, e ácido úrico na urina e para a produção de urina em L/dia. De forma semelhante, não houve diferença nas concentrações das purinas totais, derivados de purinas e purinas absorvíveis em Mmol/dia, e também não foi observada diferença para a produção de nitrogênio microbiano e proteína bruta microbiana, em g/dia. A eficiência da síntese de proteína microbiana também foi semelhante entre as dietas.

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

Barletta (2010) não observou alteração na síntese de proteína microbiana utilizando até 24% de inclusão de grão de soja nas rações. Freitas Jr. (2012) relatou que não houve diferença ($P>0,05$) nas excreções diárias em mmol/L e mmol/dia de alantoína na urina e no leite, ácido úrico na urina excreção de urina em L/dia, purinas totais, derivados de purinas, purinas absorvíveis em Mmol/dia, produção de nitrogênio microbiano, proteína bruta microbiana, em g/dia, e eficiência da síntese de proteína microbiana entre as dietas experimentais com as mesmas fontes de gordura usadas no presente estudo.

4.4 Balanço de energia

Na Tabela 8 são apresentados os resultados do balanço de energia em função das dietas experimentais. Não foram observados efeitos no consumo de energia bruta (EB), energia digestível (ED), energia metabolizável (EM) e energia líquida (EL) entre os tratamentos. Houve tendência de maior consumo de EB ($P=0,07$) e de maior consumo de EL ($P=0,06$) para o tratamento saís de cálcio em relação ao tratamento com soja

grão. Esses resultados podem ser explicados devido a uma maior quantidade ingerida de MS em animais recebendo sais de cálcio (12,17 vs 11,52 kg/dia), embora as duas dietas fossem bem próximas em valores de energia, mesmo não havendo diferença no consumo.

Harvatine e Allen (2006d) afirmaram que os ácidos graxos tenderam a diminuir linearmente a ingestão de ED quanto maior o grau de instauração da dieta. No entanto, o consumo de EL não foi afetado pelos tratamentos. A produção de EL para leite não foi afetada pela fonte saturada, mas diminuiu linearmente com o aumento da fonte insaturada.

O balanço de energia pode ser verificado por meio de cálculo da conservação de energia e os tratamentos não diferiram em energia disponível para a manutenção calculada pela diferença do consumo de EL e EL para a produção de leite e ganho de peso vivo (Harvatine e Allen, 2006d). Esta abordagem foi selecionada pelos autores para o cálculo mais comum de balanço de energia no intuito de remover o viés do aumento de ganho de peso corporal, superestimando aumentos de exigência energética de manutenção em alguns tratamentos. O peso metabólico pode ser usado para prever as exigências de energia de manutenção entre animais diferindo no peso corporal, mas não estimar as mudanças nas exigências de energia líquida de manutenção com ganho de peso, pois há variações na composição corporal dos animais estudados (NRC, 2001).

Venturelli (2011) observou que o balanço de energia para vacas no final de lactação, recebendo uma dieta com 65% de volumoso, foi influenciado pelas dietas experimentais. Foi observado efeito linear crescente da energia líquida de lactação e na energia bruta quanto maior o nível de inclusão de grão de soja. O autor justificou que os resultados estão de acordo o consumo de extrato etéreo e pelo consumo de energia digestível apresentado e também pelo comportamento da produção de energia líquida de lactação e de ganho quando avaliadas as rações experimentais.

Tabela 8 – Balanço de energia de acordo com as dietas experimentais

Variáveis	Dietas experimentais				Média	EPM ²	Valor de P		
	C	OS	GS	SC			C1	C2	C3
Consumo									
EB ³ (Mcal/dia)	47,13	47,04	46,83	54,18	48,80	2,43	0,403	0,161	0,07
ED ⁴ (Mcal/dia)	36,67	36,48	36,40	37,79	36,84	1,87	0,873	0,623	0,445
EM ⁵ (Mcal/dia)	31,48	30,61	30,34	34,68	31,78	1,77	0,844	0,257	0,147
EL _L ⁶ (Mcal/dia)	20,51	21,42	21,51	24,68	22,03	1,07	0,104	0,185	0,06
Produção									
EL _g ⁷ (Mcal/dia)	0,27	0,31	0,32	0,34	0,31	0,09	0,011	0,565	0,101
Balanço de energia									
EL ⁸ (Mcal/dia)	10,16	10,21	10,02	10,13	10,13	0,40	0,636	0,133	0,494
Eficiência energética									
ELp ⁹ /CED	0,26	0,30	0,30	0,32	0,30	0,01	<0,001	0,330	0,363

¹Controle (C); óleo de soja (OS); grão de soja (GS); sais de cálcio de ácidos graxos (SC), (Megalac-E®). C1= controle versus fontes de gordura (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos); C2= óleo de soja versus sais de cálcio e grão de soja; C3= grão de soja versus sais de cálcio. ²Erro padrão da média;

³Energia bruta;

⁴Energia Digestível;

⁵Energia Metabolizável - EM (Consumo) = 1.01 × (ED (consumo)) - 0.45] + 0.0046 × (EE - 3) (NRC, 2001);

⁶Energia Líquida de lactação (EL_L) - EL_L (consumo) = 0.703 × EM (Consumo) - 0.19 + {[0.097 × EM (Consumo) + 0.19]/97} × [EE - 3];

⁷Energia líquida de ganho (EL_g) (Variação de peso corporal) calculado pelas fórmulas do NRC (2001).

⁸EL = EL (consumo) - EL (ganho PV) - EL (leite).

⁹EL de produção (EL produção de leite + EL ganho de PV).

Gandra (2012), avaliando vacas no pré-parto com suplementação de fontes de ômega 6 e 3, observou efeito de dieta, sendo que a fonte de ômega 3 aumentou os consumos de EB, ED, EM e EL de lactação em relação às fontes de ômega 6, porém não houve diferenças entre os balanços.

Caldari-Torres et al. (2011) suplementaram vacas leiteiras no período de transição com fontes de ácidos graxos saturados, ω 6 ω3 e não observaram diferença no balanço de energia no pré-parto quando comparam as dietas enriquecidas com ácidos graxos ω6 e ω3. Em outro estudo Hayirli, Keisler e Doepel (2011), suplementaram vacas no período de transição com fontes de ácidos graxos oleico, linoleico e linolênico e também não observaram diferenças para o balanço de energia no pré-parto.

Já no estudo realizado por Freitas Jr. (2012), não houve efeito das dietas com fontes de gordura sobre os consumos de EB, ED e ELL. O autor relatou que a dieta com sais de cálcio de ácidos graxos promoveu aumento de 4,3% para o consumo de ELL em relação a grão de soja. Esse resultado pode ser observado ainda por Freitas Jr.

(2008) e Santos et al. (2009), que corroboram com o presente estudo, onde esse aumento foi significativo e de 14,7%.

4.5 Balanço de nitrogênio

Os valores médios e os coeficientes de variação para os consumos de nitrogênio total (NT), a excreção de NT nas fezes (N-fecal), na urina (N-urina) e o balanço de nitrogênio (BN) obtidos para as rações experimentais são apresentados na Tabela 9. Não foi observado efeito para consumo de NT, o que corrobora com a ausência de efeito estatístico no consumo de PB entre as dietas. Também não houve efeito para os demais parâmetros avaliados.

Gandra (2012), avaliando vacas secas no pré-parto observou efeito na excreção de NT nas fezes (g/dia) para as dietas suplementadas com fontes de ácidos graxos em relação à dieta controle, sendo observado excreção de 9,2 g/dia ou 13,06% menor para as dietas ricas em ácidos graxos $\omega 6$ e $\omega 3$. O autor alegou que os resultados estão de acordo com os CDPB apresentados pelas dietas suplementadas com ácidos graxos que apresentaram maiores em relação à dieta controle e podem ter interferido nesta variável.

Tabela 9 – Balanço de nitrogênio de acordo com as dietas experimentais

Item	Dietas experimentais ¹				Média	EPM ²	Valor de P		
	C	OS	GS	SC			C1	C2	C3
	<i>g de N/dia</i>								
Consumo	265,24	259,52	260,81	292,95	269,63	15,10	0,743	0,422	0,146
Fezes	45,85	45,46	45,52	54,99	47,96	4,91	0,566	0,325	0,168
Urina	120,73	112,24	113,07	142,07	122,03	15,85	0,917	0,387	0,210
Balanço	98,45	101,62	102,10	95,80	99,49	16,42	0,640	0,273	0,791
	<i>% N total</i>								
Fezes	16,73	16,57	17,67	17,98	17,24	1,69	0,729	0,837	0,583
Urina	42,78	40,94	47,44	46,76	44,48	5,37	0,728	0,564	0,510
Balanço	38,68	40,12	38,70	33,70	37,80	6,12	0,662	0,559	0,463

¹Controle (C); óleo de soja (OS); grão de soja (GS); sais de cálcio de ácidos graxos (SC), (Megalac-E®). C1= controle versus fontes de gordura (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos); C2= óleo de soja versus sais de cálcio e grão de soja; C3= grão de soja versus sais de cálcio. ² Erro padrão da média.

O consumo de nitrogênio total, excreção de compostos nitrogenados totais nas fezes e urina, o balanço de nitrogênio (BN) em gramas de NT por dia e em porcentagem por dia, avaliados por Gandra (2012) não foram influenciados pelas dietas, assim como no presente estudo. Isso pode ser justificado pela ausência de diferenças entre os consumos e a excreção de nitrogênio, já que as rações utilizadas neste estudo foram isonitrogenadas.

Venturelli (2011) também não constatou efeito para consumo de nitrogênio total, apesar de ocorrer aumento numérico do consumo de proteína bruta com o aumento da inclusão de soja grão na dieta de vacas em final de lactação. Não houve efeito para excreção de nitrogênio na urina, no leite e nas fezes (g/dia), o autor concluiu que os dados estão de acordo com o consumo de proteína bruta observado nas dietas experimentais. O valor médio de N retido obtido pelo autor foi de 75,51 g de N/dia, já o obtido no presente estudo foi de 99,49 g de N/dia. Essa diferença pode ser explicada pelo fato da categoria animal analisada ser diferente nos experimentos, vacas em lactação, mesmo estando em final de lactação, excretam uma quantidade considerável de N no leite, o que resulta em uma menor retenção de nitrogênio quando comparadas com vacas secas.

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

4.6 Parâmetros sanguíneos

A composição bioquímica do plasma sanguíneo reflete a situação metabólica dos tecidos animais, de forma a poder avaliar lesões teciduais, transtornos no funcionamento de órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos e desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional. A

interpretação do perfil bioquímico é complexa devido aos mecanismos que controlam o nível sanguíneo de vários metabólitos e devido, também, a grande variação desses níveis em função de fatores como raça, idade, estresse, dieta, nível de produção leiteira, manejo, clima e estado fisiológico (lactação, gestação, estado reprodutivo) (GONZÁLEZ; SCHEFFER, 2002).

Não houve diferença ($P>0,05$) entre as rações experimentais para as concentrações no soro de glicose, ureia, proteínas totais, albumina, aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamiltransferase (GGT)) (Tabela 10).

As dietas com fontes de gordura apresentaram maiores valores ($P<0,05$) nas concentrações de colesterol total e colesterol HDL em relação à dieta controle. O aumento das concentrações de colesterol total e de HDL-colesterol no soro pode ser atribuído ao maior consumo de ácidos graxos nos animais que receberam as dietas suplementadas com lipídios. Esse aumento proporcionou aumento das respectivas frações relativas ao metabolismo de lipídios transportados no sangue. De acordo com González e Scheffer (2002), o colesterol nos animais pode ser tanto de origem exógena, proveniente dos alimentos, como endógena, sendo sintetizado, a partir do acetil-CoA, no fígado, nas gônadas, no intestino, na glândula adrenal e na pele. O colesterol circula no plasma ligado às lipoproteínas (HDL, LDL e VLDL), sendo que cerca de 2/3 dele está esterificado com ácidos graxos. Os níveis de colesterol plasmático são indicadores adequados do total de lipídios no plasma, pois corresponde a aproximadamente 30% do total. O colesterol é necessário como precursor dos ácidos biliares, os quais fazem parte da bile, e dos hormônios esteróides (adrenais e gonadais). Os estrógenos, sintetizados a partir de colesterol, afetam a complexa inter-relação das funções hipofisiária, tireoidiana e adrenal.

Entre vários metabólitos usados como combustível para a oxidação respiratória, a glicose é considerada o mais importante. Na digestão dos ruminantes, pouca glicose proveniente do trato alimentar entra na corrente sanguínea. O fígado é o órgão responsável pela sua síntese a partir de moléculas precursoras na via da gliconeogênese. Assim, o ácido propiônico produz 50% dos requerimentos de glicose, os aminoácidos gliconeogênicos contribuem com 25% e o ácido láctico com 15%. Outro

precursor importante é o glicerol (GONZÁLEZ; SCHEFFER, 2002). O teor de glicose sanguíneo tem poucas variações, em função dos mecanismos homeostáticos bastante eficientes do organismo, os quais envolvem o controle endócrino por parte da insulina e do glucagon sobre o glicogênio e dos glicocorticoides sobre a gliconeogênese. A dieta também tem pouco efeito sobre a glicemia, em função desses mecanismos homeostáticos, exceto em animais com severa desnutrição. Isso explica a manutenção de níveis semelhantes de glicose nos diferentes tratamentos avaliados neste estudo. Os valores de glicose ao redor de 70 mg/dL obtidos no presente estudo se encontram dentro dos limites considerados normais para ruminantes, e estão bem próximos dos valores encontrados por Gandra (2012) em vacas no pré-parto, e Venturelli (2011) em vacas no final de lactação, ambos os autores também utilizaram fontes de ácidos graxos insaturados na dieta dos animais.

De acordo com Costa (2008) a influência lipídica sobre os níveis de glicose no sangue parece pouco provável, devido ao eficiente controle homeostático que os ruminantes possuem a fim de manter suprimento adequado de glicose para os tecidos chave que só utilizam glicose como fonte de energia, como a glândula mamária e o cérebro.

Abdullah et al. (2000), alimentando vacas leiteiras com alta forragem (até 75%) e suplemento de gordura, também não encontrou diferença significativa nas concentrações de glicose no sangue para as vacas em diferentes dietas experimentais e controle.

No entanto, Avila et al. (2000) obtiveram uma tendência decrescente para glicose sanguínea a medida que o grau de insaturação dos suplementos aumentavam, mas de maneira geral, as concentrações de glicose proporcionadas por dietas com ou sem suplementação lipídica foram iguais. Avila et al. (2000) também encontraram maiores teores de triacilglicerídeos (TAG) em animais consumindo dietas com adição de suplementos lipídicos.

Tabela 10 - Metabólitos sanguíneos de acordo com as dietas experimentais

Item	Dietas experimentais ¹				EPM ²	Valor de P		
	C	OS	GS	SC		C1	C2	C3
			mg/dl					
Glicose	71,63	68,63	67,38	67,00	3,28	0,105	0,861	0,574
Colesterol	116,68	143,46	134,94	160,96	16,36	0,001	0,054	0,090
C-HDL ³	72,38	83,02	82,95	96,68	7,22	0,020	0,284	0,074
Ureia	34,00	31,75	29,63	27,88	2,81	0,202	0,957	0,339
			g/l					
Proteínas totais	25,55	26,54	24,09	27,98	3,64	0,727	0,123	0,530
Albumina	3,25	3,27	3,07	3,17	0,11	0,322	0,085	0,355
			U/L					
AST ⁴	35,25	34,13	41,13	36,50	2,99	0,553	0,114	0,565
GGT ⁵	18,72	21,21	18,43	18,03	3,07	0,706	0,406	0,063

¹Controle (C); óleo de soja (OS); grão de soja (GS); sais de cálcio de ácidos graxos (SC), (Megalac-E®). C1= controle versus fontes de gordura (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos); C2= óleo de soja versus sais de cálcio e grão de soja; C3= grão de soja versus sais de cálcio. ²Erro padrão da média.

³Colesterol – lipoproteína de alta densidade (HDL); ⁴AST: aspartato aminotransferase; ⁵GGT: gama glutamil transferase.

De acordo com Bremmer et al. (1998), a concentração de colesterol foi aumentada pela adição de gordura na dieta, mas não aumentou significativamente quando a quantidade de gordura aumentou. O colesterol no plasma de vacas leiteiras normalmente é aumentado pela gordura dietética suplementar (JENKINS; JENNY, 1989; PALMQUIST; CONRAD, 1980) devido a uma maior demanda de colesterol em processos de digestão de lipídios, absorção e transporte.

Barletta (2010) e Naves (2010) observaram um aumento no colesterol total e colesterol HDL nos parâmetros sanguíneos dos animais. Venturelli (2011) observou efeito linear crescente para as concentrações de colesterol total e colesterol HDL com o aumento da inclusão de gordura, porém não encontrou diferença para as concentrações no soro de glicose, ureia, proteínas totais, albumina e GGT.

Freitas Júnior et al, (2010) avaliaram as concentrações de colesterol total e HDL, glicose, ureia e nitrogênio uréico no soro e enzimas hepáticas (AST, GGT), de vacas em lactação alimentadas com 50% de silagem de milho e óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio, e encontraram valores semelhantes ao presente estudo. As concentrações de albumina, AST, GGT, colesterol HDL, colesterol total e ureia foram maiores para os animais submetidos a dietas contendo fontes de gordura quando

comparadas a dieta controle. Entretanto a inexistência de variações das enzimas hepáticas AST e GGT indica os animais suplementados não sofreram alterações consideráveis no tecido hepático durante o metabolismo de gordura, o que ocorreu de forma similar no presente estudo.

Bu et al. (2007) ao estudarem o efeito de óleos ricos em ácido linoleico (óleo de soja), ácido linolênico (óleo de semente de linhaça) ou uma combinação dos dois óleos encontraram concentrações de colesterol, fosfolipídios, colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e AGNE no sangue aumentadas em relação a dieta controle. No período pré-parto foi observado por Gandra (2012) efeito de dieta na concentração de glicose, colesterol total e triglicerídeos, onde os animais que consumiram dietas suplementadas com fontes de ácidos graxos (SL, GS ou SC) apresentaram em média, mais 15,05 mg/dL de triglicerídeos em relação aos que consumiram a dieta controle.

Também foi observado por Gandra (2012) efeito para a concentração de colesterol no pré-parto, com maior concentração em vacas que consumiram GS, sendo 137,9 mg/dL ou 25,24% maior em relação às que consumiram SC. Este resultado foi explicado pelo autor pela possível relação com a extensão da bio-hidrogenação ruminal do grão de soja cru integral e dos sais de cálcio para vacas secas e com a quantidade de ácidos graxos $\omega 6$ e $\omega 3$ que foram absorvidos em nível de intestino delgado. Entretanto, apesar da concentração de colesterol no tratamento GS (134,94 mg/dL) neste estudo ser bem próxima da encontrada por Gandra (2012), não foram observadas diferenças com o tratamento SC, sendo que o mesmo apresentou até valor numérico maior (160,96 mg/dL), mas sem efeito.

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

De acordo com CHRISTENSEN et al. (1994) o metabolismo ruminal, absorção intestinal, transporte sistêmico, metabolismo sistêmico, secreção e deposição de gordura no organismo são aspectos diretamente ligados ao metabolismo de lipídios e

podem influenciar os parâmetros sanguíneos em animais recebendo gordura nas rações.

4.7 Cinética ruminal

Os valores de conteúdos ruminiais, pools e fluxos de nutrientes, assim como a taxa de passagem e o “turnover” ruminal de líquidos estão representados na Tabela 11. A adição de AG não alterou o conteúdo ruminal de MN em kg e o volume de conteúdo ruminal em litros. A porcentagem de MS do conteúdo ruminal foi menor ($P<0,05$) no tratamento controle em relação aos demais. Houve efeito no tamanho de “pool” para as dietas, sendo que maiores “pools” de MS (8,47 kg vs 8,91 kg) e MO (7,83 kg vs 8,29 kg) foram observados ($P<0,05$) para as dietas com adição de lipídios, o que pode ser explicado por uma maior retenção da digesta nesses tratamentos. Com isso também era esperado uma redução no consumo de MS, porém isso não foi observado. Por se tratar de um estudo com vacas secas e que não estavam em um desafio metabólico grande e que não consumiam o máximo da sua capacidade potencial, como geralmente ocorre com vacas em lactação, provavelmente os animais conseguiram atender as suas exigências sem ter a necessidade de regular o consumo. Também houve diferença no “pool” de FDN em que a dieta com OS teve maior valor quando comparada às com GS e SC. Essa diferença pode ser devido ao menor valor da taxa de digestão ruminal da FDN nesse tratamento (2,82%/h) quando comparado aos tratamentos SC e GS, em que a FDN foi menos degradada no rúmen e por isso apresentou-se em maior quantidade.

Freitas Jr. (2012), avaliando os mesmos tratamentos, mas com vacas no terço médio de lactação, não encontrou efeito das dietas experimentais sobre o conteúdo ruminal em quilos, volume ruminal, conteúdo de matéria seca, pool ruminal de matéria seca, taxa de passagem de líquido, volume de líquido ruminal, e taxa de renovação ruminal. A quantidade de líquido estimado pelo indicador polietilenoglicol (PEG) relatada pelo autor foi de 61,68 litros, enquanto o valor médio encontrado para vacas secas no presente estudo foi de 38,32 litros. Essas diferenças podem ser entendidas como

características dos animais em função dos diferentes fases da lactação, em que o padrão de consumo é totalmente diferente.

Os fluxos totais de MS e FDN (Tabela 11) foram maiores ($P<0,05$) para a dieta com SC quando comparada à que continha GS. O fluxo de FDNi foi semelhante entre tratamentos. Da mesma forma, não foram observados efeitos no volume de líquido ruminal em L, na taxa de passagem de líquidos em %/h ou L/h, e no “turnover” ruminal de líquidos em vezes/24h. A taxa de turnover ruminal desempenha um papel importante na nutrição de ruminantes. De acordo com Bull et al. (1979), o aumento do turnover ruminal de líquido pode alterar a fermentação ruminal com aumento de acetato, butirato e metano e diminuição de propionato. Também resulta em uma maior velocidade de passagem de pequenas partículas de alimentos. O efeito sobre a digestão total depende da composição da alimentação e forma física. O turnover ruminal de líquido é também é aumentado pelo maior nível de consumo, adição de fibra grossa nas rações, e por agentes osmoticamente ativos. A falta de diferença das taxas de passagem e turnover de líquidos podem ser atribuídas a não alteração no consumo entre dietas.

Tabela 11 - Efeitos da suplementação dietética de ácidos graxos na dinâmica ruminal

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	Valor de P		
	C	OS	GS	SC		C1	C2	C3
Conteúdo ruminal de MN, kg	71,90	73,74	74,34	69,85	2,05	0,725	0,465	0,095
Volume do conteúdo ruminal, L	77,03	77,06	81,44	75,88	2,45	0,693	0,588	0,112
Conteúdo ruminal, % MS	11,78	12,22	12,07	12,38	0,19	0,024	0,985	0,179
Pool ruminal, kg								
MS	8,47	9,01	8,98	8,73	0,32	0,038	0,455	0,320
MO	7,83	8,43	8,29	8,14	0,30	0,040	0,331	0,556
FDN	6,67	7,09	6,86	6,61	0,22	0,213	0,028	0,158
FDNi	3,82	4,00	3,96	3,95	0,14	0,251	0,758	0,925
Fluxo total, kg/d								
MS	5,90	5,70	5,16	6,05	0,23	0,446	0,799	0,046
FDN	3,07	2,96	2,73	3,13	0,12	0,409	0,861	0,053
FDNi	1,77	1,70	1,71	1,77	0,05	0,475	0,520	0,484
Volume do líquido ruminal, L	38,57	37,18	40,00	37,54	1,26	0,872	0,473	0,330
Taxa de passagem, % /h	8,23	8,34	8,38	8,51	0,15	0,390	0,630	0,623
Taxa de passagem, L/h	3,13	3,07	3,27	3,14	0,05	0,772	0,220	0,351
Turnover ruminal, vezes/24 h	1,97	2,00	2,01	2,04	0,03	0,411	0,645	0,609

¹Controle (C); óleo de soja (OS); grão de soja (GS); sais de cálcio de ácidos graxos (SC), (Megalac-E®). C1= controle versus fontes de gordura (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos); C2= óleo de soja versus sais de cálcio e grão de soja; C3= grão de soja versus sais de cálcio. ²Erro padrão da média.

As taxas de digestão ruminal, de turnover e passagem ruminal de sólidos podem ser observados na Tabela 12. As taxas de digestão ruminal da MS, FDN e FDNpd do tratamento controle foram semelhantes àqueles com suplementação de gordura. Entretanto, foram observados efeitos no contraste 2, em que a dieta com OS teve menores taxas de digestão ruminal para MS, FDN e FDNpd quando foram comparadas com os tratamentos GS e SC, provavelmente pelos maiores efeitos nesses parâmetros quando o ácido graxo é fornecido de forma livre, sem nenhum tipo de proteção. Esse resultado também corrobora com a relação C2:C3 menor obtida com o óleo de soja, em que há uma maior proporção de propionato em relação ao acetato, o que pode influenciar negativamente a população de bactérias fibrolíticas na digesta, acarretando em diminuição da digestibilidade ruminal da fibra, e consequentemente, da MS.

Freitas Jr. (2012) não encontrou efeito nas taxas de digestão da MS e da FDN. No entanto, esse autor observou que os animais alimentados com a dieta contendo grão de soja apresentaram menor taxa de digestão e maior taxa de renovação ruminal da FDNpd quando comparada a digestão dos animais alimentados com a dieta contendo SC. Esse efeito não foi observado no presente estudo.

Já as taxas de turnover ruminal da MS e MO tiveram diferenças nos contrastes 1 e 3 (Tabela 12). A dieta controle teve maiores valores ($P < 0,05$) de turnover ruminal da MS e MO (5,94 e 6,05 %/h, respectivamente) que as médias das dietas OS, GS e SC (5,49 e 5,51; 5,43 e 5,53; 5,89 e 5,93 %/h, respectivamente), como a taxa de turnover ruminal é determinada pela razão entre consumo e o pool ruminal do respectivo nutriente avaliado, o menor pool de MS e MO para o tratamento controle foi determinante para influenciar o resultado de maior turnover ruminal de MS e MO obtido no mesmo. Além disso, a dieta com sais de cálcio teve maiores valores desses parâmetros que a dieta com GS. O aumento da taxa de turnover ruminal pode estar ligado ao menor tamanho de partícula da dieta, já que no tratamento GS, os grãos foram fornecidos inteiros para os animais. Não houve diferença nas taxas de turnover de FDNi. As taxas de turnover da FDN e FDNpd foram menores para a dieta com OS do que para as dietas GS e SC, fato que pode ser explicado pelo maior pool de FDN e FDNpd encontrado no OS.

Tabela 12 – Concentração de nutrientes na cinética de digestão ruminal

Item	Dietas experimentais ¹				EPM ²	Valor de P		
	C	OS	GS	SC		C1	C2	C3
Taxa de digestão (%/h)								
MS ³	3,02	2,82	3,05	2,98	0,10	0,561	0,009	0,592
FDN ⁴	1,60	1,44	1,77	1,60	0,06	0,937	0,012	0,111
FDNpd ⁵	3,74	3,34	4,22	3,96	0,16	0,688	0,009	0,389
Taxa de turnover ruminal (%/h)								
MS	5,94	5,49	5,43	5,89	0,12	0,027	0,268	0,015
MO	6,05	5,51	5,53	5,93	0,12	0,006	0,113	0,018
FDN	3,53	3,20	3,43	3,56	0,07	0,197	0,014	0,286
FDNi ⁶	1,97	1,79	1,84	1,90	0,05	0,086	0,309	0,464
FDNpd	5,64	5,06	5,64	6,05	0,12	0,793	0,003	0,133
Taxa de passagem (%/h)								
MS	2,93	2,68	2,38	2,91	0,08	0,079	0,842	0,009
FDN	1,94	1,76	1,65	1,96	0,05	0,080	0,591	0,005
FDNpd	1,90	1,72	1,42	2,09	0,11	0,276	0,825	0,001
FDNi	1,97	1,79	1,84	1,90	0,05	0,086	0,309	0,464
Massa de digesta ruminal (kg)								
Matéria natural	71,90	73,74	74,34	69,85	2,05	0,725	0,465	0,095
MS	8,47	9,01	8,98	8,73	0,32	0,038	0,455	0,320
FDN	6,67	7,09	6,86	6,61	0,22	0,213	0,028	0,158
FDNpd	2,85	3,09	2,90	2,66	0,10	0,741	0,003	0,035
FDNi	3,82	4,00	3,96	3,95	0,14	0,251	0,758	0,925

¹Controle (C); óleo de soja (OS); grão de soja (GS); sais de cálcio de ácidos graxos (SC), (Megalac-E®). C1= controle versus fontes de gordura (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos); C2= óleo de soja versus sais de cálcio e grão de soja; C3= grão de soja versus sais de cálcio. ² Erro padrão da média; ³ matéria seca; ⁴fibra em detergente neutro; ⁵ fibra em detergente neutro potencialmente digestível; ⁶fibra em detergente neutro indigestível.

Freitas Jr. (2012) não encontrou efeito das dietas experimentais sobre as taxas de renovação ruminal da matéria seca, matéria orgânica, FDN e FDNi. Harvatine e Allen (2006) não encontraram diferenças no turnover ruminal da MS, MO, FDN e FDNpd e amido quando usaram diferentes fontes e graus de saturação de AG. Entretanto, o turnover ruminal de AG foi aumentado pela adição de gordura, mas diferenças nas taxas de passagem e digestão de AG totais não foram detectadas.

Nos parâmetros de taxa de passagem de nutrientes houve diferenças no contraste 3 (Tabela 12). A dieta com GS teve menores taxas de passagem da MS, FDN e FDNpd em relação à dieta com SC (2,38; 1,65; 1,42 vs 2,91; 1,96; 2,09 %/h, respectivamente). Esses valores estão de acordo com as diferenças nesse mesmo contraste para fluxo da FDN, uma vez que a taxa de passagem é obtida pela razão do

fluxo do nutriente com o pool do mesmo. A taxa de passagem da FDNi não foi diferente entre tratamentos. A taxa de passagem média de matéria seca deste experimento foi de 2,73 %/h. A menor taxa de passagem pode ser atribuída ao maior tamanho de partícula inicial dos alimentos, uma vez que a redução de partículas grandes é um requisito para o alimento fluir a partir do retículo-rúmen (WELCH; SMITH, 1978), e com isso há uma maior retenção ruminal desse material, e também um maior tempo de ação das bactérias na degradação dos nutrientes, aumentando-se, conseqüentemente, a digestibilidade ruminal. Contudo, um aumento da taxa de passagem de partículas do rúmen pode aumentar a digestão e absorção de nutrientes no intestino delgado e, assim compensar ou até aumentar a eficiência do desempenho do animal (WAYBRIGHT; VARGA, 1991).

Bettero et al. (2013), avaliando tratamentos semelhantes para vacas primíparas em lactação não verificaram diferenças entre dietas no tocante à passagem ruminal da fibra na fração volumosa nem na fração concentrada, efeito diferente do observado no presente estudo. Caroço de algodão, soja crua moída, óleo de soja e sais de cálcio de ácidos graxos compunham os tratamentos. Observou-se estimativa média global para as taxas de passagem de 3,8%/h e 5,5%/h para volumoso e concentrado, respectivamente e a dietas era composta por 55 % de silagem de milho.

Freitas Jr. (2012) não observou diferenças nas dietas experimentais sobre a taxa de passagem da matéria seca, FDN, FDNi e FDNpd.

Já Carvalho (2012) observou que os sais de cálcio retardaram o fluxo ruminal de partículas em relação ao tratamento sem inclusão de lipídios e como consequência elevou o tempo médio de retenção no rúmen-retículo e no trato digestivo total.

A taxa de passagem do alimento no rúmen é uma variável de grande importância, pois determina o fluxo da digesta pelo trato digestivo. Com a redução no tamanho de partícula do alimento aumenta-se o consumo de matéria seca, reduz a digestibilidade, e resulta em um tempo menor de retenção de sólidos. As rações que têm menor tamanho de partícula inicial entrarão no rúmen com um tamanho ainda menor depois da mastigação e deglutição inicial, e então saem do rúmen com uma taxa mais rápida. O resultado é um aumento na taxa de remoção do conteúdo ruminal que

permite um aumento no consumo de matéria seca, mas devido à taxa de passagem ser mais rápida ocorre também uma redução no tempo disponível para os micro-organismos degradarem os alimentos. Por outro lado, a baixa taxa de passagem pode reduzir a eficiência de fermentação ao aumentar os gastos com manutenção das bactérias e a reciclagem microbiana no rúmen, o que disponibiliza menor quantidade de nitrogênio e energia para o crescimento microbiano (WALDO, 1986).

Os menores valores encontrados de taxa de passagem de nutrientes para o tratamento GS em relação ao SC podem ser explicados pelo maior tamanho de partícula que a dieta apresentou, pois os grãos foram fornecidos na forma integral para os animais. Um valor numérico mais baixo em relação aos demais tratamentos para taxa de passagem da MS, FDN e FDNpd também foi observado. Em um estudo com cabras fistuladas no rúmen e utilizando o feno de tifton como volumoso, Silva et al. (2007) avaliaram fontes lipídicas e verificaram que a suplementação com grão de soja promoveu redução da taxa de passagem de sólidos quando comparado ao óleo de soja, sais de cálcio e dieta controle similar ao presente estudo, e atribuíram o resultado ao teor de fibra contido na casca do grão. O tratamento com grão de soja também apresentou maior tempo de retenção no rúmen. O alto conteúdo de hemicelulose e as características estruturais da parede celular de sementes oleaginosas, em que a epiderme apresenta células emparelhadas (GRENET; BARRY, 1987; ESCALONA et al., 1999), contribuem para esse aumento no tempo de permanência. Por isso, sugere-se que as características peculiares de sementes oleaginosas sejam levadas em consideração quando as mesmas são utilizadas na sua forma integral.

A digestão e a passagem atuam de forma simultânea e competitiva para a remoção da digesta no rúmen, sendo necessário, então, estudar os efeitos combinados da digestão e da taxa de passagem para maximizar o consumo de nutrientes digestíveis. Deste modo, compreender como o volume do rúmen, a taxa de digestão e de passagem da digesta respondem a alterações no nível de ingestão de alimentos é fundamental para conhecer o mecanismo pelo qual ocorre a degradabilidade ruminal e digestibilidade dos nutrientes (KOVÁCS et al., 1998). A digestibilidade é uma função complexa de digestão e passagem do rúmen. Digestão e passagem são processos

dinâmicos e a cinética da digestão e passagem variam de acordo com as propriedades físico-químicas de forragem para a alimentação animal, interações e efeitos associativos, e nível de consumo de ração e estado fisiológico da vaca (GRANT; COTANCH, 2012).

As digestibilidades ruminais e totais da FDN e FDNpd são apresentadas na Tabela 13.

Tabela 13 – Concentrações de FDN e cinética de digestão ruminal

Item	Dietas experimentais ¹				EPM ²	Valor de P		
	C	OS	GS	SC		C1	C2	C3
FDN								
Consumo, kg/dia	5,59	5,39	5,56	5,60	0,14	0,709	0,363	0,877
Digestibilidade ruminal								
Kg/dia	2,52	2,44	2,83	2,48	0,08	0,588	0,090	0,002
%	45,05	45,37	51,38	44,50	1,37	0,270	0,192	0,006
Passagem para o abomaso								
Kg/dia	3,07	2,96	2,73	3,13	0,12	0,409	0,861	0,053
Digestibilidade no trato total								
Kg/dia	3,08	2,88	3,17	3,10	0,07	0,819	0,042	0,607
% consumo	61,87	57,65	59,14	58,01	0,95	0,006	0,291	0,802
FDNpd								
Consumo kg/dia	3,82	3,70	3,85	3,83	0,10	0,843	0,307	0,919
Digestibilidade ruminal								
Kg/dia	2,52	2,44	2,83	2,48	0,08	0,588	0,090	0,020
%	65,99	66,19	74,29	65,04	1,96	0,322	0,201	0,007
Passagem para o abomaso								
Kg/dia	1,30	1,26	1,02	1,36	0,09	0,435	0,542	0,021
Digestibilidade no trato total								
Kg/dia	3,08	2,88	3,17	3,10	0,07	0,819	0,042	0,607
% consumo	81,37	78,41	82,96	81,51	1,36	0,755	0,011	0,366

¹ Controle (C); óleo de soja (OS); grão de soja (GS); sais de cálcio de ácidos graxos (SC), (Megalac-E®). C1= controle versus fontes de gordura (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos); C2= óleo de soja versus sais de cálcio e grão de soja; C3= grão de soja versus sais de cálcio. ² Erro padrão da média.

Houve efeito significativo no contraste 3 para a digestibilidade ruminal da FDN em kg/dia e em porcentagem, em que os valores da dieta GS (2,83 kg/dia e 51,38%, respectivamente) foram maiores quando comparados à dieta com sais de cálcio (2,48 kg/dia e 44,50%, respectivamente) esse efeito corrobora com os menores valores de

taxa de passagem da FDN na dieta GS, devido ao possível maior tempo de retenção da dieta e, conseqüentemente maior tempo de exposição à microbiota ruminal. A passagem de FDN em kg/dia para o abomaso tendeu ($P=0,053$) ser menor também no tratamento GS, esse comportamento já esperado, pois se um dado nutriente da dieta é mais digerido no rúmen, logicamente irá chegar menor quantidade do mesmo no abomaso. Apesar da ausência de efeito no contraste 1 para digestibilidade ruminal de FDN, esse efeito não se manteve quanto à digestibilidade total, o que pode ser explicado por uma maior compensação da digestibilidade pós-ruminal no tratamento controle em relação aos tratamentos com adição lipídica. Esse mesmo efeito pode ter acontecido de forma similar para o tratamento com sais de cálcio, pois a digestibilidade total da FDN também não foi diferente quando comparado ao tratamento com GS. Os lipídios tem maior efeito de defaunação no ceco por ser um compartimento menor o que leva a uma menor fermentação e conseqüentemente uma alteração na digestibilidade da FDN no trato total. No presente experimento, em que dietas ricas em forragem foram fornecidas aos animais, cerca de 15 a 20 % da digestibilidade da FDN pode ter sido pós-ruminal.

Ikwegbu e Sutton (1982) mostraram a digestão "compensatória" da MO e da fibra no intestino quando a digestibilidade ruminal foi diminuída pela suplementação com óleo de linhaça em ovinos. Faichney et al. (2002) também mostraram que a digestão no intestino grosso foi parcialmente compensada pelo efeito negativo de lipídios insaturados na digestão ruminal.

O consumo de FDNpd (Tabela 13) não foi diferente entre tratamentos ($P>0,05$). Já as digestibilidades da FDNpd em kg/d e porcentagem tiveram comportamento similar ao apresentado pela FDN, com diferença no contraste 3, ou seja, o GS teve maiores valores de digestibilidade da FDNpd (2,83 kg/d e 74,29%) em relação ao SC (2,48 kg/d e 65,04%) . Como consequência, a passagem de FDNpd em kg/dia para o abomaso apresentou menores valores no tratamento GS.

Freitas Jr. verificou que o consumo de FDNpd kg/dia foi maior para as vacas submetidas a dieta com sais de cálcio em relação a dieta com grão de soja, o que não foi observado no presente estudo. No entanto os animais submetidos às dietas com

fontes de gordura apresentaram maior digestibilidade ruminal da fração FDNpd ($P < 0,041$) em relação a dieta controle, esse efeito também não foi observado neste estudo.

4.8 Bio-hidrogenação ruminal e fluxo abomasal de ácidos graxos

O consumo de ácidos graxos, fluxo abomasal, composição de ácidos graxos no abomaso e bio-hidrogenação ruminal de acordo com as dietas experimentais estão expressos na Tabela 14. Os ingredientes e as sobras foram analisados quanto à concentração de ácidos graxos com número entre 4 a 24 de carbonos para avaliar o consumo de ácidos graxos.

Houve efeito no consumo total de ácidos graxos e também nos consumos de C16:0, C18:0, C18:1 *cis*, C18:2 e C18:3 quando comparou-se os tratamentos com suplementação lipídica em relação ao controle, uma vez que os teores de extrato etéreo foram maiores nessas dietas. Também houve efeito no C3, onde a dieta SC teve um maior consumo de ácidos graxos totais e de todos os ácidos graxos avaliados individualmente quando comparado à dieta GS. Isso ocorreu devido ao consumo de 104,31 g a mais de ácidos graxos no tratamento SC, em consequência de um menor teor de ácidos graxos que o esperado no grão de soja utilizado, uma vez que as dietas com suplementação estavam balanceadas para extrato etéreo.

Em consequência do maior consumo de ácidos graxos na dietas suplementadas com lipídios, observaram-se maiores fluxos abomasais de ácidos graxos totais e também dos ácidos graxos saturados mensurados como o C16:0 e o C18:0, além do 18:1 *trans*, resultados também obtidos por Freitas Jr. (2012) e Barletta (2015), ao avaliarem tratamentos similares em vacas no terço médio e final de lactação, respectivamente. O maior valor de 18:1 *trans* e de ácidos graxos saturados das dietas com suplementação lipídica no presente estudo pode ser explicado por serem intermediários e produtos finais do processo de bio-hidrogenação. Com a suplementação de ácidos graxos insaturados, apesar da redução da extensão da bio-

hidrogenação, há um aumento do fluxo pós-ruminal destes compostos (BEAM et al., 2000).

Tabela 14 – Consumo, fluxo abomasal, composição de ácidos graxos no abomaso e bio-hidrogenação ruminal de vacas leiteiras alimentadas com dietas contendo diferentes fontes lipídicas

	Dietas experimentais ¹				EPM ²	Valor de P		
	C	OS	GS	SC		C1	C2	C3
Consumo	g/dia							
Total AG	289,39	554,00	492,99	597,30	25,16	<0,001	0,667	0,001
16:0	32,24	63,10	60,49	67,08	2,92	<0,001	0,771	0,024
18:0	8,97	17,01	15,87	18,40	0,78	<0,001	0,840	0,003
18:1 <i>cis</i>	64,53	122,05	106,39	132,06	5,50	<0,001	0,534	<0,001
18:2	142,67	273,12	245,90	294,90	12,40	<0,001	0,761	<0,001
18:3	16,41	30,52	28,45	34,17	1,42	<0,001	0,508	<0,001
Fluxo abomasal	g/dia							
Total AG	302,39	536,48	471,87	601,61	31,01	<0,001	0,996	0,028
16:0	55,50	75,57	67,50	105,54	5,10	0,001	0,162	<0,001
18:0	208,01	403,83	359,40	418,55	22,28	<0,001	0,663	0,143
18:1 <i>trans</i>	7,86	26,91	3,97	34,93	2,89	0,002	0,078	<0,001
18:1 <i>cis</i>	9,05	8,72	16,86	11,76	1,93	0,411	0,208	0,316
18:2	4,47	4,40	10,19	7,88	1,16	0,196	0,068	0,414
18:3	0,17	0,23	0,27	0,52	0,05	0,090	0,113	0,050
Composição abomasal	g/100g de AG							
16:0	18,72	14,10	14,28	17,54	0,42	<0,001	0,003	<0,001
18:0	68,66	75,52	76,76	69,74	0,77	<0,001	0,037	<0,001
18:1 <i>trans</i>	2,63	4,79	0,91	5,68	0,39	0,011	0,003	<0,001
18:1 <i>cis</i>	3,03	1,60	3,09	1,97	0,27	0,153	0,125	0,112
18:2	1,50	0,80	1,90	1,29	0,16	0,610	0,030	0,139
18:3	0,06	0,04	0,06	0,08	0,01	0,983	0,175	0,352
Taxa de Bio-hidrogenação %	% consumido							
18:1 <i>cis</i>	85,89	93,01	85,87	91,17	1,38	0,166	0,155	0,147
18:2	96,83	98,43	96,31	97,39	0,34	0,445	0,048	0,228
18:3	98,94	99,27	99,08	98,59	0,18	0,914	0,287	0,294

¹Controle (C); óleo de soja (OS); grão de soja (GS); sais de cálcio de ácidos graxos (SC) (Megalac-E®), C1= controle vs fontes lipídicas (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos); C2= óleo de soja vs sais de cálcio e grão de soja; C3= grão de soja vs sais de cálcio, ² Erro padrão da média.

Para o fluxo abomasal de ácidos graxos insaturados, não foram observadas diferenças para os fluxos de C18:1 e C18:3 quando comparou-se a dieta OS com as dietas GS+SC. Estes resultados contradizem o efeito esperado de que o fluxo de ácidos graxos fosse maior nas fontes lipídicas protegidas, uma vez que a taxa de exposição dos ácidos graxos aos micro-organismos seria menor nestas dietas (NRC, 2001), e

podem estar associados aos elevados teores de forragem nas dietas, o que aumenta a extensão de bio-hidrogenação (BATEMAN; JENKINS, 1998). Keele, Roffler e Beyers (1989) não encontraram diferenças nos fluxos duodenais de 18:2 e 18:3 ao fornecer sementes de oleaginosas (caroço de algodão e grão de soja extrusada) para vacas não-lactantes, mas as médias dos fluxos duodenais de C16:0, C18:0 e C18:1 foram maiores para as dietas contendo sementes de oleaginosas do que para o controle, e concluíram que a maioria do C18:2 e C18:3 provenientes de sementes oleaginosas foram biohidrogenados a formas mais saturadas.

De acordo com Glasser et al. (2008), a alta proporção de volumoso na dieta tem um efeito negativo sobre os fluxos duodenais de C18:1, 18:2 e 18:3. Este efeito tem sido observado por vários autores, e poderia decorrer de vários fenômenos conhecidos por influenciar a bio-hidrogenação, incluindo pH ruminal, teor de amido das dietas e mudanças nas populações bacterianas. A fibra dietética aumenta a lipólise e a bio-hidrogenação (GERSON; JOHN; KING, 1985), o que pode ser explicado por uma maior população de bactérias celulolíticas, consideradas mais importantes no processo de bio-hidrogenação e também por um maior tamanho e conteúdo de partículas de alimento, que são os locais preferidos para bio-hidrogenação (HARFOOT; HAZLEWOOD, 1997).

Porém, para o fluxo de C18:2 houve tendência de aumento ($P=0,068$) para o fluxo deste ácido graxo nas dietas suplementadas com fontes lipídicas protegidas em relação à dieta OS, com um consequente aumento de 51,4% no fluxo abomasal desse ácido graxo. Além disso, a concentração de 18:2 também foi maior ($P<0,05$) nas dietas contendo fontes protegidas de lipídios. Esses resultados podem indicar que o uso de lipídios protegidos inibe a maior ação dos micro-organismos em hidrogenar o ácido linoleico, no intuito de diminuir seu efeito negativo para os mesmos. Com isso, a quantidade desse ácido graxo específico que chega ao intestino tende a ser maior e os efeitos benéficos atribuídos ao mesmo na saúde animal, como melhorias no desempenho reprodutivo e sistema imunológico, podem ser maximizados. Hess, Moss e Rule (2008), em uma extensa revisão, concluíram que em todos os experimentos utilizando-se óleo vegetal, onde foi determinado o fluxo de ácidos graxos para o

duodeno em animais alimentados com dietas ricas em forragem, a bio-hidrogenação completa da gordura na dieta resultou num aumento substancial no fluxo duodenal de C18:0. Devido à bio-hidrogenação incompleta, no entanto, os autores também observaram um aumento em ácidos graxos insaturados que fluem para o duodeno em animais que receberam gordura suplementar.

Ao analisar o contraste 3 (GS vs SC), foram observadas diferenças ($P < 0,05$) nos fluxos de ácidos graxos totais, C 16:0, C18:1 *trans* e C18:3, com maiores fluxos quando os sais de cálcio foram adicionados. Esse dado pode ser um reflexo do consumo mais acentuado desses ácidos graxos no respectivo tratamento. O valor de C18:1 *trans*, menor no tratamento GS em relação à dieta com SC, também pode ser um reflexo de uma maior proteção dos ácidos graxos C18:2 quando adiciona-se sementes de oleaginosas na dieta, pois o C18:1 *trans* é um isômero da bio-hidrogenação e aparece em maior quantidade quanto maior a extensão da bio-hidrogenação. Esse fator corrobora com os dados obtidos de digestibilidade ruminal, em que o tratamento com grão de soja obteve o maior valor de digestibilidade ruminal da FDN quando comparado ao SC (51,38% vs 44,50%, respectivamente), devido à menor interferência dessa fonte lipídica na ação dos micro-organismos do rúmen.

No que diz respeito à composição abomasal de ácidos graxos não houve diferença nas concentrações de C18:1 *cis* e C18:3 entre as dietas experimentais. O tratamento controle teve maiores concentrações de C16:0 e C18:0 e menor concentração de C18:1 *trans* quando compara-se com as dietas em que houve suplementação lipídica, o que já era esperado, visto que esses resultados refletem a menor concentração de ácidos graxos insaturados nesse tratamento e também a menor escala do processo de bio-hidrogenação, e que há menor produção do C18:1 *trans* a partir do C18:2.

Também houve efeito em C2, em que os animais submetidos à dieta OS apresentaram concentrações inferiores dos ácidos graxos C16:0 e C18:2 ($P < 0,05$) na digesta abomasal, quando comparados com os animais das dietas SC+GS. Já os menores valores observados em C18:0 e C18:1 *trans* estão muito mais relacionados aos valores baixos apresentados na composição dos tratamentos sais de cálcio e grão

de soja, respectivamente. Maiores concentrações de C18:2 observadas nas digestas de animais recebendo fontes lipídicas protegidas indicam que houve uma inibição real da bio-hidrogenação dos micro-organismos ruminais.

Animais que receberam grão de soja na dieta apresentaram maiores concentrações de C18:0 e menores concentrações de C16:0 e C18:1 *trans* quando comparados com àqueles que receberam sais de cálcio na dieta. Esses valores sustentam os resultados de menor fluxo abomasal de C16:0 e C18:1 *trans* também observados no tratamento grão de soja e descritos anteriormente.

As taxas de bio-hidrogenação dos ácidos graxos C18:1 *cis* e C18:3 não foram diferentes entre as dietas ($P>0,05$), independentemente do tratamento avaliado, e na média geral 98,97 % e 88,99 % desses ácidos graxos, respectivamente, foram bio-hidrogenados no rúmen. Já em relação à taxa de bio-hidrogenação do C18:2, houve efeito no C2. A taxa de bio-hidrogenação na dieta com óleo de soja foi maior ($P<0,05$) quando comparada às fontes protegidas (GS+SC), demonstrando que quando utilizam-se ácidos graxos insaturados com algum tipo de proteção, seja na forma de sementes oleaginosas ou de sais de cálcio, há uma inibição da bio-hidrogenação do ácido linoleico, e aumenta-se a chance de maior aporte desse ácido graxo, que apresenta efeitos importantes já comprovados no metabolismo animal. Harvatine e Allen (2006a), ao fornecer lipídios com diferentes graus de insaturação para vacas leiteiras, também não encontraram diferenças no grau de bio-hidrogenação de C18:1 *cis*, mas a bio-hidrogenação de C18:2 e C18:3 foi aumentada, quando aumentou-se o teor de ácidos graxos insaturados.

Barletta (2015) também observou o mesmo efeito estatístico nas taxas de bio-hidrogenação de C18:2, em dietas similares mas com 65% de silagem de milho para vacas em final de lactação, além da tendência de menor bio-hidrogenação da dieta GS em relação à dieta SC. Freitas Jr. (2012), avaliando vacas no meio de lactação, também encontrou maior taxa de bio-hidrogenação do ácido linoleico, quando a dieta OS foi comparada aos animais que receberam as dietas contendo grão de soja e sais de cálcio (93,71 vs 86,35; 82,34% respectivamente). Além disso, foi observado pelo autor uma tendência ($p=0,059$) para redução da bio-hidrogenação do ácido linolênico na dieta com

óleo de soja em relação às fontes protegidas (93,18 vs 76,49; 70,36%), esse efeito não foi observado no presente estudo, possivelmente pela pequena quantidade de ácido linolênico e também pela maior extensão da bio-hidrogenação que ocorre em dietas ricas em volumoso.

5. CONCLUSÕES

A utilização de ácidos graxos insaturados na dieta não alterou o consumo de matéria seca, mas houve diminuição na digestibilidade no trato total da FDN e menor relação acetato:propionato quando dietas com fontes lipídicas foram fornecidas.

O fluxo abomasal de ácidos graxos foi maior quando utilizou-se lipídios na dieta, e entre as dietas com adição lipídica, a bio-hidrogenação do ácido linoleico (C18:2) foi menor quando fontes protegidas foram usadas.

O grão de soja aumentou a digestibilidade ruminal da FDN, e mostra-se como uma alternativa viável para utilização em vacas no período seco, em dietas ricas em volumoso, quando há o intuito de aumentar o aporte de ácidos graxos insaturados a nível de intestino, principalmente C18:2.

6. IMPLICAÇÕES

Os produtores devem tentar otimizar os processos metabólicos ruminais e a absorção de ácidos graxos no duodeno através de medidas corretas de alimentação e manejo na pecuária leiteira e que forneçam quantidade e qualidade de AG dietéticos apropriados para os animais.

O presente estudo traz dados de fluxo e bio-hidrogenação de ácidos graxos em vacas no período seco recebendo dietas a base de silagem de milho e utilizando fontes lipídicas convencionais, ricas em ácido linoleico, advindos da soja. O grão de soja possibilitou a chegada de uma quantidade ligeiramente maior de ácido linoleico no intestino, que pode ser suficiente para fornecer os benefícios nutracêuticos em

reprodução e imunidade, aspectos fundamentais para otimizar a saúde de vacas nesse período específico do ciclo de produção, muitas vezes negligenciado pela maioria dos produtores. Em algumas regiões pode haver disponibilidade do grão de soja integral a um menor custo quando comparada ao produto comercial.

As barreiras físicas naturais da semente oleaginosa protegeram eficientemente os AGs da bio-hidrogenação ruminal, com menores alterações nos parâmetros digestivos e no metabolismo ruminal. Este resultado aponta e direciona a necessidade do desenvolvimento de novos produtos com outras tecnologias mais inertes no rúmen. Alternativamente, estudos futuros devem avaliar o conteúdo de AG e o fluxo de outras oleaginosas que possam ter maior viabilidade técnica e econômica do que os produtos comerciais existentes atualmente no mercado.

7. REFERÊNCIAS

ABDULLAH, M.; YOUNG, J. W.; TYLER, H. D.; MOHIUDDIN, G. Effects of feeding high forage diets and supplemental fat on feed intake and lactation performance in dairy cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 13, n. 4, p. 457-463, 2000.

ABEL-CAINES, S. F.; GRANT, R. J.; KLOPFENSTEIN, T. J.; WINOWISKI, T.; BARNEY, N. Influence of nonenzymatically browned soybeans on ruminal fermentation and lactational performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 1036–1045, 1998.

AFERRI, G. Desempenho e características de carcaça de novilhos alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 5, p. 1651-1658, 2005.

ALDRICH, C. G.; MERCHEN, N. R.; DRACKLEY, J. K.; GONZALEZ, S. S.; FAHEY, G. C. JR.; BERGER, L. L. The effects of chemical treatment of whole canola seed on lipid and protein digestion by steers. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 502–511, 1997.

ALLEN, M. S.; MERTENS, D. R. Evaluating constraints on fiber digestion by rumen microbes. **Journal of Nutrition**, v. 118, p. 261–270, 1988.

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

ANDERSEN, J. B.; RIDDER, C.; LARSEN, T. Priming the cow for mobilization in the periparturient period: effects of supplementing the dry cow with saturated fat or linseed. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 1029–1043, 2008.

A. O. A. C. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist. USA. 2000.

ATKINSON, R. L.; SCHOLLJEGERDES, E. J.; LAKE, S. L.; NAYIGIHUGU, V.; HESS, B. W.; RULE, D. C. Site and extent of digestion, duodenal flow, and intestinal disappearance of total and esterified fatty acids in sheep fed a high-concentrate diet supplemented with high-linoleate safflower oil. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 387– 396, 2006.

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

BARLETTA, R.. V. **Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras**. Pirassununga, SP: USP, 2010. 96p. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) – Universidade de São Paulo, 2010.

BARLETTA, R. V.; RENNÓ, F. P.; GANDRA, J. R.; FREITAS JR., J. E.; VERDURICO, L. C.; MINGOTI, R. D.; VILLELA, F.G. Desempenho e parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras alimentadas com grão de soja. **Archivos de Zootecnia**, v. 61, p. 1-10, 2012.

BARLETTA, R.. V. **Avaliação da cinética ruminal e fluxo abomasal de ácidos graxos em vacas leiteiras suplementadas com fontes lipídicas**. Pirassununga, SP: USP, 2015. 115p. Tese (Doutorado em Nutrição e Produção Animal) – Universidade de São Paulo, 2015.

BATEMAN, H. G.; JENKINS, C. Influence of soybean oil in high fiber diets fed to nonlactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 8, n. 9, p. 2451-2458, 1998.

BAUCHART, D. Lipid absorption and transport in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3864, 1993.

BEAM, T. M.; JENKINS, T. C.; MOATE, P. J.; KOHN, R. A.; PALMQUIST, D. L. Effects of Amount and Source of Fat on the Rates of Lipolysis and Biohydrogenation of Fatty Acids in Ruminal Contents. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2564–2573, 2000.

BENCHAAAR, C.; ROMERO-PÉREZ, G. A.; CHOUINARD, P. Y.; HASSANAT, F.; EUGENE, M.; PETIT, H. V.; CÔRTEZ, C. Supplementation of increasing amounts of linseed oil to dairy cows fed total mixed rations: Effects on digestion, ruminal fermentation characteristics, protozoal populations, and milk fatty acid composition. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 4578–4590, 2012.

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

BERNARD, J. K. Effect of Raw or Roasted Whole Soybeans on Digestibility of Dietary Nutrients and Milk Production of Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 3231-3236, 1990.

BETTERO, V.P.; GANDRA, J. R.; NUNES, H. V. N.; FREITAS JR., J. E.; BARLETTA, R. V.; CARVALHO, M. V.; DETMANN, E.; PEREIRA, J. C. Sources of omega-6 fatty acids do not alter the rumen degradation and transit of fibre from dairy cow diets. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 22, p. 295–301, 2013.

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

BOKEN, S. L.; STAPLES, C. R.; SOLLENBERGER, L. E.; JENKINS, T. C.; THATCHER, W. W. Effect of Grazing and Fat Supplementation on Production and Reproduction of Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 4258-4272, 2005.

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

BRODERICK, G. A.; KANG, J. H. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino-acids in ruminal fluid and in vitro media. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.64-75, 1980.

BROKAW, L.; HESS, B. W.; RULE, D. C. Supplemental soybean oil or corn for beef heifers grazing summer pasture: effects on forage intake, ruminal fermentation, and site and extent of digestion. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 2704–2712, 2001.

BU, D. P.; WANG, J. Q.; DHIMAN, T. R.; LIU, S. J. Effectiveness of oils rich in linoleic and linolenic acids to enhance conjugated linoleic acid in milk from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 998–1007, 2007.

BULL, L. S.; RUMPLER, W. V.; SWEENEY, T. F.; ZINN, R. A. Influence of ruminal turnover on site and extent of digestion. **Federation proceedings**, v. 38, p. 2713-2719, 1979.

BURR, G. O.; BURR, M. M. On the nature and role of the fatty acids essential in nutrition. **Journal of Biological Chemistry**, v. 86, p. 587–621, 1930.

BYERS, F.M.; SCHELLING, G.T. Lipids in ruminant nutrition. In: CHURCH, D.C. The ruminant animal: digestive, physiology and nutrition. 2.ed. New Jersey: Waveland Press, 1993. p. 298-312.

CALDARI-TORRES, C.; LOCK, A. L.; STAPLES, C. R.; BADINGA, L. Performance, metabolic, and endocrine responses of periparturient Holstein cows fed 3 sources of fat. **Journal of Dairy Science**. v. 94, p. 1500–1510, 2011.

CARVALHO, I. P. C. **Fontes lipídicas na terminação de novilhos de corte em pastejo**. 2012. 97 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, 2012.

CASALI, A. O.; DETMANN, E; VALADARES FILHO, S. C.; PEREIRA, J. C.; HENRIQUES, L. T.; FREITAS, S. G.; PAULINO, M. F. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos in situ. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 335-342, 2008

CERRI, R. L. A.; JUCHEM, S. O.; CHEBEL, R. C.; RUTIGLIANO, H. M.; BRUNO, R. G. S.; GALVÃO, K. N.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Effect of fat source differing in fatty acid profile on metabolic parameters, fertilization, and Embryo quality in high-producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 1520-1531, 2009.

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

CHALUPA, W.; VECCHIATELLI, B.; ESLER, A.; KRONFELD, D. S.; SKLAN, D.; PALMQUIST, D. L. Ruminant fermentation *in vivo* as influenced by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 1293–1301, 1986.

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

CHEN, X.B., GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details. **INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT**. Rowett Research Institute. Aberdeen, UK. (occasional publication). 21p., 1992.

CHILLIARD, Y.; GAGLIOSTRO, G.; FLECHET, J.; LEFAIVRE, J.; SEBASTIAN, I. Duodenal rapeseed oil infusion in early and midlactation cows. 5. Milk fatty acids and adipose tissue lipogenic activities. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 1844, 1991.

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

CHILLIARD, Y.; GLASSER, F.; FERLAY, A.; BERNARD, L.; ROUEL, J.; DOREAU, M. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. **Europe Journal Science Technology**, v. 109, p. 828-825, 2007.

CHIN, S. F.; LIU, W.; STORKSON, J. M. et al. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognised class of anticarcinogens. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.5, p. 185-197, 1992.

CHIZZOTTI, M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D.; CHIZZOTTI, F. H. M.; MARCONDES, M. I.; FONSECA, M. A. Consumo, digestibilidade e excreção de ureia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n.1, p.138-146, 2007.

CHOI, B. R.; PALMQUIST, D. L. High fat diets increase plasma cholecystokinin and pancreatic polypeptide, and decrease plasma insulin and feed intake in lactating cows. **Journal of Nutrition**., v. 126, p. 2913–2919, 1996.

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

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

CLARK, D. A.; KANNEGANTI, V. R. Grazing management systems for dairy cattle. **Grass for Dairy Cattle**, p. 331, 1998.

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

COSTA, M. G. **Rações com diferentes fontes de gordura para vacas em lactação**. 2008. 119p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

CZERKAWSKI, J. W.; BLAXTER, K. L.; WAINMAN, F. W. The effect of functional groups other than carboxyl on the metabolism of C18 and C12 alkyl compounds by sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 20, n.1, p. 495-502, 1966.

CZERKAWSKI, J. W. Microbial fermentation in the rumen. **Proceedings Nutrition Society**, v. 43, p. 101-180, 1984.

DAVIS, C.L.; BROWN, R. E. Low-fat Milk Syndrome. In: A.T. PHILLIPSON (Eds.) **Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant**, Oriel Press Limited, Newcastle upon Tyne, UK, 1970. p. 545- 565.

DAWSON, R. M. C.; HEMINGTON, N.; HAZLEWOOD, G. P. On the role of higher plant and microbial lipases in the ruminal hydrolysis of grass lipids. **British Journal of Nutrition**, v. 38, p. 225–232, 1977.

DEPETERS, E.J., CANT, J.P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. **Journal of Dairy Science**, v.75, p. 2043-2070, 1992.

DEWHURST, R. J.; DAVIES, D. R.; MERRY, R. J. Microbial protein supply from the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v. 85, p. 1-21, 2000.

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

DOREAU, B.; FERLAY, A. Digestion and utilization of fatty acids by ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 45, p. 379-396, 1994.

DOREAU, M.; FERLAY, A. Effect of dietary lipids on nitrogen metabolism in the rumen: a review. **Livestock Production Science**, v. 43, p. 97–110, 1995.

DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal of Nutrition**, v.78, p.15-35 (suppl. 1), 1997.

DOREAU, M.; AUROUSSEAU, E.; MARTIN, C. Effects of linseed lipids fed as rolled seeds, extruded seeds or oil on organic matter and crude protein digestion in cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 150, p. 187–196, 2009.

DOREAU, M. Bio-hidrogenação ruminal de ácidos graxos, In: III SIMPÓSIO INTERNACIONAL AVANÇOS EM TÉCNICAS DE PESQUISA EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 2011, Pirassununga. **Anais...**Pirassununga: FMVZ. 2011. p. 46-58.

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

DRACKLEY, J. K.; GRUM, D. E.; MCCOY, G. C. et al. Comparison of three methods for incorporation of liquid fat into diets for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 8, p. 1386-1484, 1994.

DRACKLEY, J. K. Lipid Metabolism. In: D'Mello JPF, editor. **Farm animal metabolism and nutrition**. Allingford (UK): CABI Publishing, p. 97–119, 2000.

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

DUSKE, K.; HAMMON, H. M.; LANGHOF, A.-K.; BELLMANN, O.; LOSAND, B.; NÜRNBERG, K.; NÜRNBERG, G.; SAUERWEIN, H.; SEYFERT, H. M.; METGES, C. C. Metabolism and lactation performance in dairy cows fed a diet containing rumen-protected fat during the last twelve weeks of gestation. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 1670-1684, 2009.

EARLEYWINE, T. J. Raw soybeans in dairy rations. In: Annual American Farmers Meeting Association, 49, 1989. **Proceedings...** San Antonio: AAFMA, 1989. p. 13-15.

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

EIFERT, E. C.; LANA, R. P.; LANNA, D. P. D.; TEIXEIRA, M. A.; ARCURI, P. B.; LEÃO, M. I.; OLIVEIRA, M. V. M.; VALADRES FILHO, S. C. Perfil de ácidos graxos e conteúdo de ácido linoleico conjugado no leite de vacas alimentadas com a combinação de óleo de soja e fontes de carboidratos na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n. 4, p. 1829-1837, 2006.

ELLIOTT, J. P.; DRACKEY, J. K.; SCHAUFF, D. J. et al. Diets containing high oil corn and tallow for dairy cows during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 3, p. 775-789, 1993.

ELLIOTT, J. P.; DRACKLEY, J. K.; ALDRICH, C. G.; MERCHEN, N. R. Effects of saturation and esterification of fat sources on site and extent of digestion in steers: Ruminal fermentation and digestion of organic matter, fiber, and nitrogen. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2803– 2812, 1997.

ELMES, M.; TEW, P.; CHENG, Z.; KIRKUP, S. E.; ABAYASEKARA, D. R.; CALDER, P. C.; HANSON, M. A.; WATHES, D. C.; BURDGE, G. C. The effect of dietary

supplementation with linoleic acid to late gestation ewes on the fatty acid composition of maternal and fetal plasma and tissues and the synthetic capacity of the placenta for 2-series prostaglandins. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1686, p. 139–147, 2004.

ENJALBERT, F.; EYNARD, P.; NICOT, M. C.; TROEGELER-MEYNADIER, A.; BAYOURTHE, C. *In vitro* versus *in situ* ruminal biohydrogenation of unsaturated fatty acids from a raw or extruded mixture of ground canola seed/canola meal. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 351–359, 2003.

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

ESCALONA, B.; ROCHA, R.; GARCÍA, J.; CARABAÑO, R.; DE BLAS, C. Characterization of *in situ* fibre digestion of several fibrous foods. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 217-221, 1999.

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

FERLAY, A., LEGAY, D., BAUCHART, C., et al. Effect of a supply of raw or extruded rapeseeds on digestion in dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 915-923, 1992.

FIORENTINI, G.; SANTANA, M. C. A.; SAMPAIO, A. A. M.; REIS, R. A.; RIBEIRO, A. F.; BERCHIELLI, T. T. Intake and performance of confined crossbred heifers fed different lipid sources. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 1490-1498, 2012

FIRKINS, J. L.; ALLEN, M. S.; OLDICK, B. S.; ST-PIERRE, N. R. Modeling ruminal digestibility of carbohydrates and microbial protein flow to the duodenum. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 3350–3369, 1998.

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

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

FREITAS JR., J. E. **Fontes de gordura na dieta de vacas em lactação**. 2012. 120 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, 2012.

FRENCH, P.; STANTON, C.; LAWLESS, F.; O’RIORDAN, E. G.; MONAHAN, F. J.; CAFFREY, P. J.; MOLONEY, A. P. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage or concentrate based diets. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 2849–2855, 2000.

FRIGGENS, N. C.; ANDERSEN, J. B.; LARSEN, T.; AAES, O.; DEWHURST, R. J. Priming the dairy cow for lactation: A review of dry cow feeding strategies. **Animal Research**, v. 53, p. 453–473, 2004.

FUENTES, M. C.; CALSAMIGLIA, S.; CARDOZO, P. W.; VLAEMINCK, B. Effect of pH and level of concentrate in the diet on the production of biohydrogenation intermediates in a dual-flow continuous culture. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 4456–4466, 2009.

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

GANDRA, J. R. **Fontes de ácidos graxos ω 3 e ω 6 em dietas de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação**. 102 f. 2012. Tese (Doutorado em Nutrição e Produção Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. Pirassununga, SP, 2012.

GARCIA-BOJALIL, C. M.; STAPLES, C. R.; RISCO, C. A. et al. Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows. Production responses. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 5, p. 1374-1384, 1998.

GARCIA, M.; GRECO, L. F.; FAVORETO, M. G.; MARSOLA, R. S.; MARTINS, L. T.; BISINOTTO, R. S.; SHIN, J. H.; LOCK, A. L.; BLOCK, E.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P.; STAPLES, C. R. Effect of supplementing fat to pregnant nonlactating cows on colostral fatty acid profile and passive immunity of the newborn calf. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 392–405, 2014.

GARTON, G. A.; LOUGH, A. K.; VIOQUE, E. Glyceride hydrolysis and glycerol fermentation by sheep rumen contents. **Journal of General Microbiology**, v. 25, p. 215–225, 1961.

GERSON T.; JOHN, A.; KING, A. S. D. The effects of dietary starch and fibre on the in vitro rates of lipolysis and hydrogenation by sheep rumen digesta. **The Journal of Agricultural Science**, v. 105, p. 27-30, 1985.

GLASSER, F.; SCHMIDELY, P.; SAUVANT, D.; DOREAU, M. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors: 2. C18 fatty acids. **Animal**, v. 2, p. 691–704, 2008.

GLASSER F; FERLAY, A.; CHILLIARD, Y. Oilseed lipid supplements and fatty acid composition of cow milk: a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 4687–4703, 2008b.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. F. S. Perfil sangüíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; CAMPOS, R. (eds.). Anais... I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, , p. 73-89, 2003.

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

GOULD, J.; SCHOLLJEGERDES, E. J.; HESS, B. W.; LUDDEN, P. A.; RULE, D. C. Effect of ethanol and oil supplementation on site and extent of OM and NDF digestion. **Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science**, v. 51, p. 83–85, 2000.

GRANT, R. J.; COTANCH, K. W. Higher forage diets: dynamics of passage, digestion, and cow productive responses. In: Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers, Syracuse, NY. p. 45-57, 2012.

GRENET, E.; BARRY, P. Etude microscopique de la digestion des parois végétales des téguments de soja et de colza dans le rúmen. **Reproduction Nutrition Development**, v. 27, p. 246-248, 1987.

GRUM, D. E., DRACKLEY, J. K.; YOUNKER, R. S.; LACOUNT, D. W.; VEENHUIZEN, J. J. Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 79, p. 1850–1864, 1996b.

GRUMMER, R. R.; HATFIELD, M. L.; DENTINE, M. R. Acceptability of Fat Supplements in Four Dairy Herds. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 852–857, 1990.

GRUMMER, R. R. Effect of feed on the composition of milk fat. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3244–3257, 1991.

GRUMMER, R. R.; LUCK, M. L.; BARMORE, J. A. Rumen fermentation and performance of cows fed roasted soybeans and tallow. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 9, p. 2674–2681, 1993.

GRUMMER, R. R. Ruminal inertness vs. intestinal digestibility of fat supplements: can there be harmony. In: Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers, Cornell University, Ithaca, NY, 1995. p. 13-14.

HALL, M. B. Calculation of non-estructural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen. Florida: University of Florida, 2000. p. A-25. (Bulletin 339, April-2000).

HARFOOT, C. G.; NOBLE, R. C.; MOORE, J. H. Factors influencing the extent of biohydrogenation of linoleic acid by rumen microorganisms *in vitro*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 24, p.961-970, 1973.

HARFOOT, C. G.; CROUCHMAN, M. L.; NOBLE, R. C.; MOORE, J. H. Competition between food particles and rumen bacteria in the uptake of long-chain fatty acids and triglycerides. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 37, p. 633–641, 1974.

HARFOOT, C. G. Lipid metabolism in the rumen. **Progress in Lipid Research**, v. 17, p. 21–54, 1978.

HARFOOT, C. G.; HAZLEWOOD, G. P. Lipid metabolism in the rumen. In: The Rumen Microbial Ecosystem. **Elsevier Science Publishing**, New York, NY, p. 285–322, 1988.

HARFOOT, C. G.; HAZLEWOOD, G. P. Lipid metabolism in the rumen. In: Hobson PN, Stewart CS, editors. The rumen microbial ecosystem. 2nd ed. London (UK): Blackie Academic & Professional; 1997. p. 382–426.

HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. The effect of production level on feed intake, milk yield, and endocrine responses to two fatty acid supplements in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 4018–4027, 2005.

HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. Fat supplements affect fractional rates of ruminal fatty acid biohydrogenation and passage in dairy cows. **Journal of Nutrition**, v. 136, p. 677–685, 2006a.

HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. Effects of Fatty Acid Supplements on Ruminal and Total Tract Nutrient Digestion in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1092–1103, 2006b.

HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. Effects of fatty acid supplements on feed intake, and feeding and chewing behavior of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1104–1112. 2006c.

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

HAYIRLI, A.; KEISLER, D. H.; DOEPEL, L. Peripartum responses of dairy cows to prepartal feeding level and dietary fatty acid source. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 917–930, 2011.

HENDERSON, C. The effects of fatty acids on pure cultures of rumen bacteria. **Journal of Agricultural Science**, v. 81, p. 107, 1973.

HESS, B. W.; WHITNEY, M. B.; RULE, D. C. Site and extent of digestion by beef heifers fed medium-quality hay and supplemental corn or soybean oil. **Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science**, v. 52, p. 469–472, 2001.

HESS, B. W.; MOSS, G. E.; RULE, D. C. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. **Journal of Dairy Science**, v. 86(E. Suppl.), p. E188–E204, 2008.

HINDERS, R. Optimum dietary fat levels for high-producing cows explored. **Feedstuffs**, n. 13, p. 10-27, 2000.

HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. **The rumen microbial ecosystem**. London: Blackie Academic and Professional, 1997. 340f.

HOMEM JR., A.C.; EZEQUIEL, J.M.B.; FÁVARO, V.R.; OLIVEIRA, P.S.N.; D'AUREA, A.P.; SANTOS, V.C.; GONÇALVES, J.S. Fermentação ruminal de ovinos alimentados com alto concentrado e grãos de girassol ou gordura protegida. **Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science**, v. 62, p. 144-153, 2010.

HRISTOV, A. N.; IVAN, M.; MCALLISTER, T. A. *In vitro* effects of individual fatty acids on protozoal numbers and on fermentation products in ruminal fluid from cattle fed a high-concentrate, barley-based diet. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 2693–2704, 2004.

HUANG, Y.; SCHOONMAKER, J. P.; BRADFORD, B. J.; BEITZ, D.C. Response of Milk Fatty Acid Composition to Dietary Supplementation of Soy Oil, Conjugated Linoleic Acid, or Both. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 260-270, 2008.

HYDEN, S. A. A turbidimetric method for the determination of higher polyethylene glycol in biological material. **KGL Lantbruks-hogskol Annales Uppsala**, v. 22, p. 139-145, 1956.

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, 1982.

MAPA. Instrução normativa nº 8, de 25 de março de 2004 - Proíbe em todo o território nacional a produção, a comercialização e a utilização de produtos destinados à alimentação de ruminantes que contenham em sua composição proteínas e gorduras de origem animal. publicada no DOU de 26 de março de 2004, Seção 1, página 5.

JENKINS, T. C.; PALMQUIST, D. L. Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. **Journal of Dairy Science** v. 67, p. 978, 1984.

JENKINS, T. C.; JENNY, B. F. Effect of hydrogenated fat on feed intake, nutrient digestion, and lactation performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 2316–2324, 1989.

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

JENKINS, T. C. Regulation of lipid metabolism in the rumen. **Journal of Nutrition**, v. 124, p. 1372S–1376S, 1994.

JENKINS, T.C. Success of fat in dairy rations depends on the amount. **Feedstuffs**, n. 13, p. 11-12, 1997.

JENKINS, T. C.; BERTRAND, J. A.; BRIDGES JR., W. C. Interactions of tallow and hay particle size on yield and composition of milk from lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 5, p. 1396-1402, 1998.

JENKINS, T. C.; ADAMS, C. S. The biohydrogenation of linoleamide in vitro and its effects on linoleic acid concentration in duodenal contents of sheep. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 533–540, 2002.

JENKINS, T. C.; MCGUIRE, M. A. Major advances in nutrition: impact on milk composition. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1302-1310, 2006.

JENKINS, T. C.; BRIDGES W. C. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. **Europe Journal Lipid Science Technology**, v. 109, p. 778-789, 2007.

JENKINS, T. C.; WALLACE, R. J.; MOATE, P. J.; MOSLEY, E. E. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 397-412, 2008.

JOUANY, J. R.; ZAINAH, B.; SENAUD, J.; GROLIERE, C. A.; GRAIN, J.; THIVEND, P. Role of the rumen ciliate protozoa- *Polyplastron mutivesiculatum*, *Entodinium sp.*, and isotricha prostoma in the digestion of a mixed diet in the sheep. **Reproduction Nutrition Development**, v. 21 (6A), p. 871, 1981.

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-C18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 2104–2114, 1997.

KARGAR, S.; KHORVASH, M.; GHORBANI, G. R.; ALIKHANI, M.; YANG, W. Z. Short communication: Effects of dietary fat supplements and forage:concentrate ratio on feed

intake, feeding and chewing behavior of Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 4297–4301, 2010.

KEELE, J. W.; ROFFLER, R. E.; BEYERS, K. Z. Ruminal Metabolism in Nonlactating Cows Fed Whole Cottonseed or Extruded Soybeans. **Journal of Animal Science**, v. 67, p. 1612-1622, 1989.

KELLENS, M. J.; GODERIS, H. L.; TOBBACK, P. P. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by a mixed culture of rumen microorganisms. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 28, p. 1268-1276, 1986.

KEMP, P.; LANDER, D. J. Hydrogenation in vitro of α -linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. *Journal of General Microbiology*, v. 130, p. 527-533, 1984.

KENNELLY, J. J. The fatty acid composition of milk fat as influenced by feeding oilseeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 60, p. 137–152, 1996.

KEPLER, C. R.; TUCKE, W. P.; TOVE, S. B. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. IV. Substrate specificity and inhibition of linoleic Δ^{12} -cis, Δ^{11} -trans-isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 245, p. 3612–3820, 1970.

KHORASANI, G. R.; OKINE, E. K.; KENNELLY, J. J. Forage source alters nutrients supply to the intestine without influencing milk yield. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 862-872, 1996.

KIMURA, F. T.; MILLER, V. L. Improved determination of chromic oxide in cow feed and feces. **Journal of Agricultural Foodstuffs Chemistry**, v. 5, p. 216, 1957.

KLUSMEYER, I. H.; LYNCH, G. L.; CLARK, J. H.; NELSON, D. R. Effects of calcium salts of fatty acids and protein source on ruminal fermentation and nutrient flow to duodenum of cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 2206-2219, 1991.

KOVÁCS, P.L.; SÜDEKUM, K. H.; STANGASSINGER, M. Effects of intake of a mixed diet and time postfeeding on amount and fiber composition of ruminal and fecal particles and digesta passage from the reticulo-rumen of steers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 71, p. 325-340, 1998.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Editora UFSM, Santa Maria, UFSM, 2002, 139p.

KUCUK, O.; HESS, B. W.; LUDDEN, P. A.; RULE, D. C. Effect of forage:concentrate ratio on ruminal digestion and duodenal flow of fatty acids in ewes. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 2233-2240, 2001.

LEE, H. C.; DUPONT, J. Effects of dietary fatty acids on the activity of glucose transport in adipocytes. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 2, p. 38, 1991.

LENG, R.A. Factors affecting the utilization of "poorquality" forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutricional Research and Review**, v. 3, n. 3, p. 277-303, 1990.

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

LOOR, J. J.; UEDA, K.; FERLAY, A.; CHILLIARD, Y.; DOREAU M. Biohydrogenation, Duodenal Flow, and Intestinal Digestibility of Trans Fatty Acids and Conjugated Linoleic Acids in Response to Dietary Forage:Concentrate Ratio and Linseed Oil in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 2472–2485, 2004.

LOOR, J. J.; FERLAY, A.; OLLIER, A.; DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Relationship Among Trans and Conjugated Fatty Acids and Bovine Milk Fat Yield Due to Dietary Concentrate and Linseed Oil. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 726-740, 2005.

LOURENÇO, M.; RAMOS-MORALES, E.; WALLACE, R. J. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. **Animal**, v. 4, p. 1008-1023, 2010.

LUNDY, F. P.; BLOCK, E.; BRIDGES JR., W. C.; BERTRAND, J. A.; JENKINS, T. C. Ruminant biohydrogenation in holstein cows fed soybean fatty acids as amides or calcium salts. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 1038–1046, 2004.

MACHADO, H. V. N. **Suplementação lipídica para vacas em lactação: perfil de ácidos graxos e teor de ácido linoleico conjugado na gordura do leite**. 2012. 105 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2012.

MAIA, M. R. G.; CHAUDHARY, L. C.; FIGUERES, L.; WALLACE R. J. Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 97, p. 303-314, 2007.

MAIA, M. R. G.; CHAUDHARY, L. C.; BESTWICK, C. S.; RICHARDSON, A. J.; MCKAIN, N.; LARSON, T. R.; GRAHAM, I. A.; WALLACE, R. J. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. **BMC Microbiology**, v. 10, p. 52, 2010.

MANSBRIDGE, R. J.; BLAKE, J. S. Nutritional factors affecting the fatty acid composition of bovine milk. **British Journal of Nutrition**, v. 78 (Suppl. 1), p. S37–S47, 1997.

MANSO, T.; CASTRO, T.; MANTECON A. R.; JIMENO, V. Effects of palm oil and calcium soaps of palm oil fatty acids in fattening diets on digestibility, performance and chemical body composition of lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 127, p. 175–186, 2006.

MARTIN, S. A.; JENKINS, T. C. Factors affecting conjugated linoleic acid and trans-C18:1 fatty acid production by mixed ruminal bacteria. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 3347–3352, 2002.

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

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

MERCHEN, N. R.; ELIZALDE, J. C.; DRACKLEY, J. K. Current perspective on assessing site of digestion in ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2223–2234, 1997.

MESSANA, J. D. **Teores de lipídeos em dietas de novilhos nelore sobre parâmetros ruminais, desempenho e características de carcaça**. 2009. 100 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, 2009.

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

MOHAMED, O. E.; SATTER, L. D.; GRUMMER, R. R.; EHLE, F. R. Influence of dietary cottonseed and soybean on milk production and composition. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2677–2688, 1988.

MORA, P. J. G. **Utilização de diferentes níveis de grão de soja cru moído em rações concentradas e determinação de energia líquida da silagem de milho para vacas em lactação**. 104 f. 1995. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – UFV, Viçosa, MG, 1995.

MORAIS, J. A. S.; BERCHIELLI, T. T.; REIS, R. A. Aditivos. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds) **Nutrição de Ruminantes**. 1 ed., p. 539-570, 2006.
MOSLEY, E. E.; POWELL, G. L.; RILEY, M. B.; JENKINS, T. C. Microbial biohydrogenation of oleic acid to trans isomers in vitro. **Journal of Lipid Research**, v. 43, p. 290–296, 2002.

NAGARAJA, T. G.; NEWBOLD, C. J.; Van NEVEL, C. J.; demeyer, d. i. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds.). **The rumen microbial ecosystem**. 2.ed. Chapman and Hall, London, UK. 1997. p. 523-632.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **United States-Canadian Tables of Feed Composition**. Washington, D.C.: National Academic Press, 1982.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient of requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2001. 362p.

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

NICHOLSON, T.; OMER, S. A. The inhibitory effect of intestinal infusions of unsaturated long-chain fatty acids on forestomach motility of sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 50, p. 141–149, 1983.

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

OBA, M.; ALLEN, M. S. Effects of corn grain conservation method on ruminal digestion kinetics for lactating dairy cows at two dietary starch concentrations, **Journal of Dairy Science**, v. 86, p.184–194, 2003.

OLDICK, B. S.; STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; GYAWU, P. Abomasal Infusion of Glucose and Fat - Effect on Digestion, Production, and Ovarian and Uterine Functions of Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1315–1328, 1997.

OLDICK, B. S.; FIRKINS, J. L. Effects of degree of fat saturation on fiber digestion and microbial protein synthesis when diets are fed twelve times daily. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 2412-2420, 2000.

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

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

ONETTI, S. G.; SCHAUER, R. D.; MCGUIRRE, M. A. et al. Effects of supplemental tallow on performance of dairy cows fed diets with different corn silage:alfalfa silage rations. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 3, p. 632-641, 2002.

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

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

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

PALMQUIST, D. L. The feeding value of fats. In: Feed science (ed. ER Orskov), Elsevier Science Publisher, Amsterdã, Holanda, 1988. p. 293–311.

PALMQUIST, D. L. Suplementação de lipídeos para vacas em lactação. In: Simpósio sobre nutrição de ruminantes, 6, 1989, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1989.

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

PALMQUIST, D. L. The role of dietary fats in efficiency of ruminants. **Journal of Nutrition**, v. 124, p. 1377S–1382S, 1994.

PALMQUIST, D. L.; LOCK, A. L.; SHINGFIELD, K. J.; BAUMAN, D. E. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 50, p.179-217, 2005.

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

PANTOJA, J.; FIRKINS, J. L.; EASTRIDGE, M. L.; HULL, B. L. Effects of fat saturation and source of fiber on site of nutrient digestion and milk production by lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2341–2356, 1994.

PANTOJA, J.; FIRKINS, J. L.; EASTRIDGE, M. L. Fatty acid digestibility and lactation performance by dairy cows fed fats varying in degree of saturation. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 3, p. 429-437, 1996a.

PANTOJA, J.; FIRKINS, J. L.; EASTRIDGE, M. L.; HULL, B. L. Fatty acid digestion in lactating dairy cows fed fats varying in degree of saturation and different fiber sources. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 3, p. 575-584, 1996b.

PAVAN, E.; DUCKETT, S. K.; ANDRAE, J. G. Corn oil supplementation to steers grazing endophyte-free tall fescue. I. Effects on *in vivo* digestibility, performance, and carcass traits. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 1330–1339, 2007.

PENA, F.; TAGARI, H.; SATTER, L. D. The effect of heat treatment of whole cottonseed on site and extent of protein digestion in dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 62, p. 1423, 1986.

PENNINGTON, J. A.; DAVIS, C. L. Effects of Intraruminal and Intra-Abomasal Additions of Cod-Liver Oil on Milk Fat Production in the Cow. **Journal of Dairy Science**, v. 58, p. 49-55, 1975.

PRICE, P. L.; NAYIGIHUGU, V.; MURRIETA, C. M.; RULE, D. C.; HESS, B. W. 2007. Duodenal flow and intestinal disappearance of fatty acids in lambs fed safflower fatty

acids in the form of whole seeds, cracked seeds, or oil extracted from seeds. **Proc. West. Sect. Am. Soc. Anim. Sci.**, v. 58, p. 31–34, 2007.

REDDY, P. V.; MORRILL, J. L.; NAGARAJA, T. G. Release of free fatty acids from raw or processed soybeans and subsequent effects on fiber digestibilities. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 3410–3416, 1994.

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

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

RIVERA, A. R.; BERCHIELLI, T. T.; MESSANA, J. D.; VELASQUEZ, P. T.; FRANCO, A. V. M.; FERNANDES, L. B. Fermentação ruminal e produção de metano em bovinos alimentados com feno de capim-tifton 85 e concentrado com aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 3, 2010.

RODRIGUEZ-SALLABERRY, C. J.; CALDARI-TORRES, C.; COLLANTE, W. R.; STAPLES, C. R.; BADINGA, L. Plasma prostaglandin and cytokine concentrations in periparturient Holstein cows fed diets enriched in saturated or trans fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 12, p. 5446-52, 2007.

RUEGSEGGER, G. J.; SCHULTZ, L. H. Response of high producing dairy cows in early lactation to the feeding of heat-treated whole soybeans. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p. 3272, 1985.

RUSSELL, J. B.; WILSON, D. B. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 1503–1509, 1996.

SALLA, L. E.; FISCHER, V.; FERREIRA, E. X.; MORENO, C. B.; JUNIOR, W. S.; DUARTE, L. D. Comportamento ingestivo de vacas jersey alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de gordura nos primeiros 100 dias de lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.3, p.683-689, 2003.

SAMPAIO, C. B.; DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; VALADARES FILHO, S. C.; SOUZA, M. A.; LAZZARINI, I.; PAULINO, P. V. R.; QUEIROZ, A. C. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Tropical Animal Health Production**, v. 42, p. 1471–1479, 2010.

SANTOS, A. D. F.; TORRES, C. A. A.; RENNÓ, F. P.; DRUMOND, M. R. S.; JÚNIOR, J. E. F. Utilização de óleo de soja em rações para vacas leiteiras no período de transição: consumo, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.1363-1371, 2009.

SAS INSTITUTE. SAS user's guide: statistics, version 9.0. Cary: SAS Institute, 2002.

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

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

SCHMIDELY, P.; GLASSER, F.; DOREAU, M.; SAUVANT, D. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors. 1. Total fatty acids. **Animal**, v. 2, p. 677-690, 2008.

SCHOLLJEGERDES, E. J.; HESS, B. W.; MOSS, G. E.; HIXON, D. L.; RULE, D. C. Influence of supplemental cracked high-linoleate or high-oleate safflower seeds on site and extent of digestion in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 3577–3588, 2004.

SERRANO, R. D.C.; SIERRA, L. M. P.; CONEGLIAN, S. M.; TONELLO, C. L.; SILVA, L. G.; LIMA, B. S. Síntese microbiana no rúmen. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 5, n. 5, Ed. 152, Art. 1025, 2011.

SHRIVER, B. J.; PALMQUIST, D. L.; KINSEY, D. J. Digestibility of dairy rations with various levels of whole roasted soybeans. **Journal of Dairy Science** v. 68 (Suppl), p. 162 (Abstr.), 1985.

SILVA, M. M. C.; RODRIGUES, M. T.; RODRIGUES, C. A. F.; BRANCO, R. H.; LEÃO, M. I.; MAGALHÃES, A. C. M.; MATOS, R. S. Efeito da suplementação de lipídios sobre a digestibilidade e os parâmetros da fermentação ruminal em cabras leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 246-256, 2007.

SILVESTRE, F. T.; CARVALHO, T. S. M.; FRANCISCO, N.; SANTOS, J. E. P.; STAPLES, C. R.; JENKINS, T. C.; THATCHER, W. W. Effects of differential supplementation of fatty acids during the peripartum and breeding periods of Holstein

cows: I. Uterine and metabolic responses, reproduction, and lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 189–204, 2011.

SHINGFIELD, K. J.; LEE, M. R. F.; HUMPHRIES, D. J.; SCOLLAN, N. D.; TOIVONEN, V. REYNOLDS, C. K.; BEEVER, D.E. Effect of incremental amounts of fish oil in the diet on ruminal lipid metabolism in growing steers. **British Journal of Nutrition**, v.104, p. 56–66, 2010.

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

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

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

STERN, M. D.; VARGA, G. A.; CLARK, J. H.; FIRKINS, J. L.; HUBER, J. T.; PALMQUIST, D. L. Evaluation of chemical and physical properties of feeds that affect protein metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2762–2786, 1994.

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

SUKHIJA, P.; PALMQUIST, D. L. Dissociation of calcium soaps of long-chain fatty acids in rumen fluid. **Journal of Dairy Science**. v.73, p. 1784-1787, 1990.

SZUMACHER-STRABEL, M.; POTKANSKI, S. A. M. A.; CIESLAK, A.; KOWALCZYK, J. Changes in fermentation processes as the effect of vegetable oil supplementation in in vitro studies. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 13 (Suppl. 1), p. 215–218, 2004.

TAMMINGA, S.; VAN VUUREN, A. M.; VAN DER KOELCN, C. J.; KHATTAB, H. M.; VAN GILS, L. G. M. Further studies on the effect of fat supplementation of concentrates fed to lactating dairy cows. 3. Effect on rumen fermentation and site of digestion of dietary components. **Netherlands Journal Agricultural Science**, v. 31, p. 249, 1983.

TAMMINGA, S.; DOREAU, M. Lipids and rumen digestion. In: JOUANY, J.P. (Ed.) **Rumen microbial metabolism and ruminant digestion**. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique, p. 151-164, 1991.

TESFA, A. T. Effects of rape-seed oil supplementation on digestion, microbial protease synthesis and duodenal microbial amino acid composition in ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 41, p. 313-328, 1993.

TICE, E. M.; EASTRIDGE, M. L.; FIRKINS, J. L. Raw soybeans and roasted soybeans of different particle sizes. 2. Fatty acid utilization by lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 166–80, 1994.

TORAL, P. G.; SHINGFIELD, K. J.; HERVÁS, G.; TOIVONEN, V.; FRUTOS, P. Effect of fish oil and sunflower oil on rumen fermentation characteristics and fatty acid composition of digesta in ewes fed a high concentrate diet. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 4804–4817, 2010.

UEDA, K.; FERLAY, A., CHABROT, J.; LOOR, J. J.; CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with

different forage:concentrate ratios. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3999–4007, 2003.

VAN NEVEL, C.; DEMEYER, D. Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil byrumen contents *in vitro*. **Reproduction Nutrition Development**, v. 36, p. 53–63, 1996.

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

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

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B. Analysis of forages and fibrous foods. AS 613 Manual. Dep. Anim. Sci., Cornell Univ., Ithaca, NY; 1985

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. 3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P. J. In: **Nutritional Ecology of the Ruminant**, 2nd ed. Cornell Univ, Press. Ithaca, NY. 1994. 488p.

VÁRADYOVÁ, Z.; KISIDAYOVÁ, S.; SIROKA, P.; JALC, D. Fatty acid profiles of rumen fluid from sheep fed diets supplemented with various oils and effect on the rumen ciliate population. **Czech Journal of Animal Science**, v. 52, p. 399–406, 2007.

VARGAS, L. H.; LANA, R. P.; JHAM, G. N.; SANTOS, F. L.; QUEIRÓZ, A. C.; MANCIO, A. B. Adição de Lipídios na Ração de Vacas Leiteiras: Parâmetros Fermentativos Ruminais, Produção e Composição do Leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 522-529, 2002.

VENTURELLI, B. C. **Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras no terço final de lactação**. Pirassununga, SP: USP, 2011. 103p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade de São Paulo, 2011.

WALDO, D. R. Effect of forage quality on intake and forage-concentrate interactions. **Journal of Dairy Science**, v.69, p. 617, 1986.

WALDO, D. R.; SMITH, L. W.; COX, E. L. Model of cellulose disappearance from the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 55, n. 1, p. 125-129, 1972.

WANAPAT, M.; MAPATO, C.; PILAJUN, R.; TOBURAN W. Effects of vegetable oil supplementation on feed intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristic of growing swamp buffaloes. **Livestock Science**, v.135, p.32–37, 2011.

WANG , Y. M.; WANG , J. H .; WANG , C.; CHEN , B.; LIU , J. X.; CAO , H.; GUO , F. C.; VAZQUEZ-ANON, M. Effect of different rumen-inert fatty acids supplemented with a dietary antioxidant on performance and antioxidative status of early-lactation cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 3738-3745, 2010.

WASOWSKA, I; MAIA, M. R.; NIEDŹWIEDZKA, K. M.; CZAUDERNA M.; RIBEIRO, J. M.; DEVILLARD, E.; SHINGFIELD, K. J.; WALLACE, R. J. Influence of fish oil on ruminal biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids. **British Journal of Nutrition**, v. 95, p. 1199-1211, 2006.

WATTS, J. S.; REZAMAND, P.; SEVIER, D. L.; PRICE, W.; MCGUIRE, M. A. Short-term effects of dietary trans fatty acids compared with saturated fatty acids on selected measures of inflammation, fatty acid profiles, and production in early lactating Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 6932–6943, 2013.

WAYBRIGHT, T. R.; VARGA, G. A. Effect of water-filled bags in the rumen of wethers on ruminal digesta kinetics and total tract nutrient digestibility. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 2157-2167, 1991.

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

WEISS, W. P. Energy prediction equations for ruminant feeds. **Proc. Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers**. Cornell University, Ithaca. p. 176-185, 1999.

WEISS, W. P.; WYATT, D. J. Digestible energy values of diets with different fat supplements when fed to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.1446-1454, 2004.

WEISS, W. P.; PINOS-RODRÍGUEZ, J. M. Production responses of dairy cows when fed supplemental fat in low-and high-forage diets. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.6144-6155, 2009.

WELCH, J. G.; SMITH, A. M. Particle sizes passed from rumen. **Journal of Animal Science**, v. 46, p. 309-312, 1978.

WILDMAN, E. E.; JONES, G. M.; WAGNER, P. E; BOMAN, R. L. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 3, p. 495-501, 1982.

WILLIAMS, C. H.; DAVID, D. J.; IISMA, O. The determination of chromic oxide in feces samples by atomic absorption spechtophotometry. **Journal of Agriculture Science**, v. 59, p. 381–385, 1962.

WILLIAMS, G. L.; STANKO, R. L. Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 1-m–12-m, 2000.

WOLFINGER, R. Covariance structure selection in general mixed models. **COMMUN, STATIST-SIMULA**, v. 22, p. 1079–1106, 1993.

WOLTMAN, T.; CASTELLANOS, D.; REIDELBERGER, R. Role of cholecystokinin in the anorexia produced by duodenal delivery of oleic acid in rats. **American Journal of Physiology**, v. 38, p. R1420–R1433, 1995.

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, p. 3025–3034, 1991.

YANG, S. L.; BU, D. P.; WANG, J. Q.; HU, Z. Y.; LI, D.; WEI, H. Y.; ZHOU, L. Y.; LOOR, J. J. Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. **Animal**, v. 3, p. 1562–1569, 2009.

ZINN, R. A.; PLASCENCIA, A. Effects of forage level on the comparative feeding value of supplemental fat in growing-finishing diets for feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 1194-1201, 1996.