

Mário Henrique França Mourthé

**GRÃO DE SOJA TOSTADO COMO SUPLEMENTO PARA VACAS HOLANDÊS X
GIR EM PASTAGEM DE *BRACHIARIA BRIZANTHA* CV. MARANDU**

Tese apresentada ao
Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia da Escola de
Veterinária da Universidade
Federal da Minas Gerais,
como requisito parcial
para obtenção do grau de
Doutor em Zootecnia.

Área de concentração: Produção Animal

Orientador: Ronaldo Braga Reis
Co-orientador: Fernando César Ferraz Lopes

FICHA CATALOGRÁFICA

Tese defendida e aprovada em 05 de Julho de 2011, pela Comissão Examinadora constituída por:

Prof. Ronaldo Braga Reis
(Orientador)

Dr. Fernando César Ferraz Lopes
(Co-orientador)

Prof. Decio Souza Graça

Prof. Helton Mattana Saturnino

Dr. Mirton José Frota Morenz

Dr. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira

Agradecimentos

A Deus, pela vida, saúde e oportunidade de trabalhar.

A minha mãe, em nome de toda minha família, pelo amor, presença e apoio incondicional em todos momentos de minha vida.

Ao meu orientador, professor Ronaldo, pela oportunidade, confiança, atenção e orientações fundamentais na graduação, mestrado e doutorado.

Ao meu co-orientador, “professor” Fernando César, pelo projeto, acompanhamento e prestatividade, principalmente, na parte experimental e análise estatística dos dados.

Aos funcionários do “Biogás” (Centro Experimental da Embrapa/Coronel Pacheco): Rosemeire (Meirinha), Marcial (Mengo) e José Moreira: exemplo de profissionalismo, compromisso, apoio técnico e amizade durante toda parte experimental.

Aos funcionários do Laboratório de nutrição Animal da Embrapa Gado de Leite e da Escola de Veterinária da UFMG pela importante ajuda nas análises químicas.

Aos estagiários Carol Duque, Bernardo, Vítor, Felipe (Pernambuco), Felipe (Pará) e todos outros do centro experimental pela fundamental ajuda na condução do experimento e análises laboratoriais.

Aos professores Décio, Sandra e Helton, representando os demais professores do departamento de Zootecnia e Escola de Veterinária UFMG, pelos valiosos ensinamentos.

Ao Danilo (UPD/depto de Zootecnia) pela amizade e ajuda nas análises estatísticas.

Aos colegas de pós-graduação que fizeram parte desta caminhada durante todo curso.

Ao Marcos Gama (Pesquisador CNPGL), todos os estagiários e amigos não citados aqui, que contribuíram para esta conquista.

Ao primo Léo Matoso, representando todos os amigos, pela convivência e cumplicidade.

A Gislene, pela excepcional e fundamental ajuda durante todo o doutorado.

A Patrícia, pelo carinho, convivência e importante ajuda para a conclusão do doutorado.

A Escola de Veterinária da UFMG pela minha formação.

A Embrapa Gado de Leite, pela estrutura para a execução da parte experimental e análises químicas.

A CAPES pela bolsa e a FAPEMIG pelo financiamento do projeto.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	04
INTRODUÇÃO GERAL.....	09
CAPÍTULO 1 - PARÂMETROS, CINÉTICA DA DEGRADAÇÃO RUMINAL E TAXA DE PASSAGEM DA FASE LÍQUIDA DE VACAS HOLANDÊS X GIR EM PASTAGEM DE <i>BRACHIARIA BRIZANTHA</i> CV. MARANDU SUPLEMENTADA COM GRÃO DE SOJA TOSTADO.....	10
RESUMO/ABSTRACT.....	10
1 - INTRODUÇÃO.....	12
2 - OBJETIVO.....	13
3 - REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3.1 - GRÃO DE SOJA TOSTADO.....	14
4 - MATERIAL E MÉTODOS.....	17
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
6 - CONCLUSÃO.....	28
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29
CAPÍTULO 2 - CONSUMO, PARÂMETROS SANGUÍNEOS, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE DE VACAS HOLANDÊS X GIR SOB PASTEJO EM <i>BRACHIARIA BRIZANTHA</i> CV. MARANDU SUPLEMENTADA COM GRÃO DE SOJA TOSTADO.....	34
RESUMO/ABSTRACT.....	34
1 - INTRODUÇÃO.....	36
2 - OBJETIVO.....	37
3 - REVISÃO DE LITERATURA.....	37
4 - MATERIAL E MÉTODOS.....	39
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
6 - CONCLUSÃO.....	54
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
CAPÍTULO 3 - PERFIL DE ÁCIDO GRAXOS DO LEITE DE VACAS HOLANDÊS X GIR SOB PASTEJO DE <i>BRACHIARIA BRIZANTHA</i> CV. MARANDU SUPLEMENTADA COM GRAO DE SOJA TOSTADO.....	60
RESUMO/ABSTRACT.....	60
1 - INTRODUÇÃO.....	61
2 - OBJETIVO.....	62
3 - REVISÃO DE LITERATURA.....	62
3.1 - FATORES QUE INFLUENCIAM NA PRODUÇÃO DE CLA.....	66
3.2 - FATORES QUE ALTERAM A CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM FORRAGEIRAS.....	70
3.3 - PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NO LEITE E SEUS BENEFÍCIOS SOBRE A SAÚDE HUMANA.....	71
4 - MATERIAL E MÉTODOS.....	75
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
6 - CONCLUSÃO.....	87
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Ingredientes e composição química dos suplementos concentrados (kg) com inclusão de quantidades crescentes de grão de soja tostado na alimentação de vacas leiteiras em pasto.....	19
Tabela 2 - Efeito do tempo de amostragem sobre o pH e concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) e de ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....	23
Tabela 3 - Degradabilidades potencial (A) e efetiva (DE), tempos de colonização (LAG) e taxas de degradação (c) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) de extrusa de <i>Brachiaria brizantha</i> , no rúmen de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de <i>B. brizantha</i> cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....	26
Tabela 4 - Parâmetros da cinética ruminal de trânsito da fase líquida no rúmen de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....	28

CAPÍTULO 2

Tabela 1 – Ingredientes e composição química dos suplementos concentrados (kg) com inclusão de quantidades crescentes de grão de soja tostado na alimentação de vacas leiteiras em pasto.....	41
Tabela 2 - Composição química (%MS) da extrusa esófagica e da folha, caule, e matéria morta colhido manualmente da <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu.....	45
Tabela 3 - Digestibilidades <i>in vitro</i> da matéria seca (%) da extrusa de <i>Brachiaria brizantha</i> e dos quatro concentrados experimentais, determinadas na Incubadora <i>in vitro</i> TECNAL, utilizando <i>filter bags</i> F57 (ANKOM) e líquido ruminal obtido de cada vaca em cada fase do Quadrado Latino, em função da quantidade de inclusão de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....	46
Tabela 4 - Consumos (kg/vaca/dia ou % do peso vivo - %PV) de matéria seca (MS), fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), proteína bruta (PB), carboidratos não fibrosos (CNF), extrato etéreo (EE) e ácidos graxos α -linolênico (C18:3 <i>cis</i> -9 <i>cis</i> -12 <i>cis</i> -15), linoleico (C18:2 <i>cis</i> -9 <i>cis</i> -12) e oleico (C18:1 <i>cis</i> -9) de vacas Holandês x Gir manejadas em pastagem de <i>Brachiaria</i> suplementada com quantidades crescentes de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....	47
Tabela 5 - Concentração de glicose e de NEFA (ácidos graxos não-esterificados) no plasma de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....	50
Tabela 6 - Produção e composição diária do leite de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....	51

CAPÍTULO 3

Tabela 1 - Teores do ácido linoleico conjugado (CLA) total e do seu principal isômero (CLA rumênico – C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11) em diferentes alimentos.....	64
Tabela 2 - Relação dos principais ácidos graxos da gordura do leite (% dos ácidos graxos totais).....	65
Tabela 3- Ingredientes e composição química dos suplementos concentrados (kg) com	

inclusão de quantidades crescentes de grão de soja tostado na alimentação de vacas leiteiras em pasto.....	76
Tabela 4 – Perfil de ácidos graxos – AG (g/100g de AG totais) da amostra de extrusa do pasto de <i>Brachiaria brizantha</i> , do grão de soja tostado (GST) e dos concentrados contendo quantidades crescentes de GST (0; 1,3; 2,6 e 3,9 kg).....	79
Tabela 5 - Perfil de ácidos graxos – AG (g/100 g de AG totais) no leite de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....	81
Tabela 6 - Perfil de ácidos graxos – AG (g/100 g de AG totais) agrupados quanto ao tamanho da cadeia carbônica (curta, média e longa), número par ou ímpar de carbonos, presença e posição de ligações duplas ligações entre carbonos (g/100 g de AG totais), no leite de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....	83
Tabela 7 – Atividade da enzima delta-9-dessaturase avaliada por meio da relação entre os pares dos ácidos graxos C14:0/C14:1 (Delta 14); C16:0/C16:1 (Delta 16); C18:0/C18:1cis-9 (Delta 18) e C18:1trans-11/ C18:2cis-9,trans-11 (Delta-CLA) do leite de vacas Holandês x Gir em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....	84

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 3

Figura 1 - Estrutura química dos seus isômeros conjugados CLA <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 (A) e CLA <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 (B) e do ácido linoleico <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12 (C).....	63
--	----

ANEXOS

CAPÍTULO 1

Figura 1 – Variação diária da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) ruminal de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....	94
Figura 2 - Variação diária da relação acetato:propionato no rúmen de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....	95
Figura 3 - Variação diária da produção de ácidos graxos voláteis totais (AGVtotais) no rúmen de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....	95
Figura 4 - Variação diária do pH no rúmen de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....	96
Tabela 1 - Produção (kg/vaca/dia ou g/vaca/dia) e composição do leite de vacas Holandês x Gir fistuladas no rúmen, em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....	97
Tabela 2 - Perfil dos ácidos graxos (g/100 g de gordura) do leite de vacas Holandês x Gir	

fistuladas no rúmen, em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....98

Tabela 3 - Consumos (kg/vaca/dia ou % do peso vivo - %PV) de matéria seca (MS), fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), proteína bruta (PB), carboidratos não fibrosos (CNF), extrato etéreo (EE) e ácidos graxos α -linolênico (C18:3 *cis*-9 *cis*-12 *cis*-15), linoleico (C18:2 *cis*-9 *cis*-12) e oleico (C18:1 *cis*-9) de vacas Holandês x Gir fistuladas no rúmen, lactantes, em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado.....100

INTRODUÇÃO GERAL

As estratégias para agregar maior valor ao leite têm merecido cada vez mais atenção na bovinocultura de leite. As bonificações pagas a partir de teores mínimos de gordura e proteína como também aos limites máximos para contagem de células somáticas e contagem bacteriana total do leite já representam um avanço para toda cadeia produtiva. Favorece o produtor pelo maior remuneração, a indústria pela melhor qualidade de matéria prima e rendimento industrial, como também aumenta a segurança do alimento para os consumidores. A descoberta das propriedades nutraceuticas de alguns ácidos graxos presentes no leite contribui para maior valorização dos produtos lácteos, já que estes são produzidos e encontrados, principalmente, na carne e leite dos ruminantes. Tais ácidos graxos fazem parte do grupo de isômeros conhecidos como ácido linoleico conjugado (CLA, do inglês *conjugated linoleic acid*), cujo principal isômero, o ácido rumênico, é relatado possuir propriedades antineoplásicas em humanos e animais.

A concentração do ácido rumênico no leite é influenciada, principalmente, pela dieta consumida pelas vacas. Animais sob pastejo e/ou suplementados com óleos vegetais apresentam maiores concentrações de ácido rumênico que aqueles recebendo silagens e/ou suplementos concentrados sem a presença de óleo. O grão de soja tostado pode representar excelente fonte de óleo; pois é rico nos teores do ácido linoleico (importante precursor do ácido rumênico); possui degradação ruminal lenta (menor interferência sobre os microrganismos do rúmen) e apresentar grande disponibilidade no mercado, já que o Brasil é o segundo maior produtor mundial e maior exportador de soja.

Pesquisas com vacas mestiças em condições de pastejo são importantes por representar a realidade de grande parte das fazendas brasileiras. Porém, nestas condições os estudos são mais laboriosos que aqueles em sistema de confinamento e isso pode explicar em parte, porque existem poucos dados sobre os parâmetros da fermentação e cinética ruminal de vacas mestiças sob pastejo em gramíneas de clima tropical.

Portanto, avaliar a dinâmica da digestão ruminal, produção e perfil de ácidos graxos do leite de vacas Holandês x Gir sob pastejo de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada com quantidades crescentes de grão de soja tostado é importante para gerar informações para a nutrição e trazer nova opção para agregar valor ao leite e aumentar a rentabilidade dos sistemas de produção de leite em pasto.

CAPÍTULO 1

PARÂMETROS, CINÉTICA DA DEGRADAÇÃO RUMINAL E TAXA DE PASSAGEM DA FASE LÍQUIDA DE VACAS HOLANDÊS X GIR EM PASTAGEM DE *BRACHIARIA BRIZANTHA* CV. MARANDU SUPLEMENTADA COM GRÃO DE SOJA TOSTADO

Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão de quantidades crescentes de grão de soja tostado (GST) em substituição ao farelo de soja sobre parâmetros da fermentação, cinética de degradação ruminal da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) da forragem, e sobre a taxa de passagem da fase líquida no rúmen de vacas Holandês x Gir em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Foi utilizado delineamento Quadrado Latino 4 x 4, utilizando-se vacas fistuladas no rúmen recebendo 6 kg/vaca/dia de concentrado contendo 0; 1,3; 2,6 e 3,9 kg de GST (base matéria natural - MN), que consistiram os tratamentos experimentais. Para a avaliação dos parâmetros ruminiais adotou-se o esquema de parcelas sub-divididas, com os tratamentos alocados nas parcelas e os tempos de amostragem (0; 2; 4; 6; 8; 10; 12 e 24 h após o fornecimento da primeira parcela do concentrado) nas sub-parcelas. Para o estudo da degradabilidade ruminal, foi utilizada extrusa de capim-braquiária (12,6% de MS; 10,8% de proteína bruta - PB e 69,7% de FDN) coletada de vaca fistulada no esôfago e mantida na mesma pastagem utilizada pelos animais experimentais. Houve efeito ($P < 0,05$) do tempo de amostragem nas concentrações de nitrogênio amoniacal e de propionato, e nas proporções molares de propionato e butirato, porém não houve efeito ($P > 0,05$) da adição de GST na dieta sobre o pH ruminal. Não houve efeito ($P > 0,05$) do nível de GST sobre os parâmetros de degradação ruminal da MS, MO e FDN da extrusa de capim-braquiária. As faixas de valores observadas para taxa de degradação e degradabilidades potencial e efetiva da extrusa de capim-braquiária, nos quatro tratamentos, foram, respectivamente, 3,41 a 3,92%/h, 85,4 a 86,4%; e 49,8 a 51,4%. Não houve efeito ($P > 0,05$) da inclusão de GST sobre a taxa de passagem da fase líquida, taxa de reciclagem, taxa de fluxo e tempo de reciclagem, porém houve aumento linear ($P < 0,05$) do volume ruminal com a adição crescente de GST. A interação do tratamento *versus* tempo de amostragem não foi significativa ($P > 0,05$) para nenhum dos parâmetros ruminiais. A inclusão de até 3,9 kg/vaca/dia de GST no concentrado não provocou efeito tanto nos parâmetros da fermentação quanto na cinética de degradação no rúmen.

PALAVRAS-CHAVE: bovino; lipídeos; pasto; rúmen

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of increasing levels of roasted soybean seeds (RSB) in the diet on rumen *In situ* degradation of dry matter (DM), organic matter (OM) and neutral detergent fiber (NDF) of forage and rumen fermentation parameters (pH, concentration of volatile fatty acids and ammonia and rumen liquid phase passage rate of lactating cows grazing *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. A 4 x 4 Latin square design with four rumen fistulated cows receiving concentrate with 0, 22, 43 or 65 % of RSB. For fermentation parameters study was used the Latin Square Split-plot design. Degradability data were estimated from grass samples, was used sample grass (12.6% DM, 10.8% crude protein-CP and 69.7% NDF) collected from a cow with esophageal cannula grazing the same pasture with the experimental animals. There was a linear effect ($P < 0.05$) of sampling time on the rumen ammonia and propionate concentrations, and the molar proportion of propionate and butyrate, however no effect ($P > 0.05$) of RSB levels on the rumen pH. No effects of ($P > 0.05$) RSB levels on the rumen degradation of DM, OM and NDF were observed. The range observed for degradation rate, potential and effective degradability of the forage were, respectively, 3.41 to 3.92%/h; 85.4 to 86.4% and 49.8 to 51.4%, for 0, 22, 43 or 65% of RSB in the concentrate. The addition of RSB in the diet did not affected ($P > 0.05$) the rumen liquid phase passage rate, turnover time, liquid turnover rate and flow rate, however showed a significant effect on the ruminal volume ($P < 0.05$). The inclusion of up to 65% of RSB in the concentrate resulted only a small effect on both rumen fermentation parameters and degradation kinetics

KEY WORDS: cattle; lipid; pasture; rumen.

1- INTRODUÇÃO

A produção de ruminantes com o objetivo de fornecer seus principais produtos para consumo humano (leite e carne) exige eficiência técnica e financeira para manter-se lucrativa. Dentre os aspectos técnicos, a nutrição é relevante para melhorar índices produtivos e econômicos dos sistemas de produção.

O conhecimento da fisiologia e metabolismo ruminal faz-se necessário para obter as alternativas nutricionais que aperfeiçoam a produção/saúde animal, de forma a obter maior equilíbrio no sistema. O rúmen funciona como câmara de fermentação e a microbiota é influenciada pela dieta consumida pelo animal. A manutenção de ambiente ruminal adequado aos microrganismos permite maior eficiência na utilização dos nutrientes dietéticos.

O estudo do metabolismo dos alimentos consumidos é importante, pois indica os processos de digestão e aproveitamento de seus componentes nutritivos pelos animais. Parâmetros ruminais como pH, concentrações de ácidos graxos voláteis e de nitrogênio amoniacal, decorrentes dos processos da fermentação dos alimentos, ajudam a explicar o comportamento de determinados eventos digestivos ou mesmo de outros decorrentes deles, como a degradabilidade ruminal e a taxa de degradação.

O fornecimento de lipídeos na dieta visa aumentar a densidade energética sem promover o incremento calórico. No entanto, sabe-se que o fornecimento de ingredientes com elevada concentração de lipídeos pode alterar a fermentação ruminal. A literatura é vasta ao apresentar os limites de inclusão de óleos na dieta para que não causem efeitos deletérios à microbiota ruminal (Palmquist et al., 1993; Bateman & Jenkins, 1998; Cenkvari et al. 2005; Costa, 2008 e Souza et al., 2009).

Animais sob pastejo, principalmente categorias de maior produção, podem sofrer mais intensa variação na fermentação ruminal devido aos picos de consumo do concentrado, quando comparados a animais em sistemas de dieta total. Mesmo considerando o elevado teor de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) das forrageiras tropicais, e o seu poder de tamponamento, faz-se necessário investigar o efeito da ingestão de grande quantidade de concentrado contendo teores crescentes de lipídeos sobre a degradação dos nutrientes no rúmen.

O grão de soja tostado (GST) possui elevados teores de ácidos graxos poli-insaturados e de proteína bruta, sendo ingrediente com características nutricionais relevantes para inclusão na dieta de vacas leiteiras. Além disso, o GST possui degradabilidade ruminal

lenta, o que, teoricamente, possibilita menor efeito negativo da alta quantidade de lipídeos sobre os microrganismos do rúmen.

Portanto, estudar os efeitos do fornecimento de lipídeos na dieta de vacas sob pastejo sobre o metabolismo ruminal faz-se necessário para ampliar as estratégias de suplementação de animais em pasto.

2- OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar a inclusão de quantidades crescentes de grão de soja tostado no concentrado de vacas manejadas em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu sobre os parâmetros da fermentação ruminal (pH; concentração de ácidos graxos voláteis e nitrogênio amoniacal), cinética de degradação e taxa de passagem da fase líquida no rúmen.

3 -REVISÃO DE LITERATURA

O principal objetivo da inclusão de lipídeos na dieta de ruminantes é o aumento da densidade energética da mesma, com menor efeito negativo sobre a fermentação ruminal comparado às dietas com elevados teores de grãos. Além disso, a suplementação com gordura promove a redução do incremento calórico e a diminuição da formação do pó dos concentrados, além de benefícios na reprodução animal (NRC, 2001), tais como o aumento da taxa de prenhez e melhor qualidade embrionária (Santos, 2010).

O desafio para a inclusão de lipídeos na dieta é a manutenção do consumo e da digestibilidade dos nutrientes e, por conseguinte, do desempenho animal. A extensão da interferência da inclusão de lipídeos na dieta depende tanto da fonte quanto da quantidade de lipídeos incluída na dieta. Várias razões são dadas para tais efeitos: recobrimento da fibra com fina camada de óleo, com implicações diretas sobre a membrana dos microrganismos; formação de sabões dos ácidos graxos (AG) com consequente diminuição da disponibilidade de cátions, como o Ca^{++} ; e alteração sobre o pH e a população de microrganismos (Byers & Schelling, 1988). Estes efeitos são atribuídos, principalmente, dos AG poli-insaturados (Bauman et al., 2008). A biohidrogenação ruminal é o mecanismo utilizado pelos microrganismos

(principalmente, bactérias) para reduzir as insaturações e seus efeitos negativos sobre a microbiota do rúmen (Jenkins et al., 2008).

As principais fontes de lipídeos comumente empregadas na alimentação animal são os grãos de oleaginosas (soja, algodão, girassol etc), os óleos e gorduras livres (óleos vegetais e sebo) e as gorduras “protegidas” ou “inertes” (sais de cálcio de AG). Na prática, os lipídeos chegam ao rúmen na forma de triglicerídeos (grãos e óleos) e de glicolipídeos e fosfolipídeos por meio das forragens (Jenkins et al., 2008). A hidrogenação dos ácidos linoleico e α -linolênico produz derivados desejáveis para incorporação aos produtos de origem animal (leite e carne), tais como o ácido rumênico (C18:2 *cis*-9 *trans*-11), que é o principal ácido linoleico conjugado (ou CLA, do inglês *Conjugated Linoleic Acid*) encontrado na gordura do leite de ruminantes (Jenkins, et al., 2008) e o ácido *trans*-vaccênico (C18:1 *trans*-11), já que 19% deste pode ser convertido endogenamente em ácido rumênico no metabolismo humano (Turpeinen et al., 2002).

O fornecimento de óleos contendo AG poli-insaturados (AGPI) por meio de grãos de oleaginosas tem menor efeito na fermentação (Knapp et al. 1991), quando comparado à forma de fornecimento utilizando óleo livre, provavelmente devido à mais lenta liberação do óleo presente no grão no fluído ruminal (NRC, 2001). Segundo Reddy et al. (1994), o óleo do grão de soja está localizado intracelularmente, devendo os microrganismos do rúmen digerirem a parede celular, para que ocorra sua liberação.

As informações quanto à quantidade de lípidos que pode ser fornecida aos ruminantes sem causar efeito deletério na digestão ruminal são controversas. Segundo Cenkvári et al. (2005), a inclusão de 5% ou mais de lipídios (base matéria seca - MS) na dieta de vacas em lactação, altera os padrões de fermentação ruminal. Entretanto, Maia et al. (2006) não encontraram efeito de 7,8% de extrato etéreo (EE) na MS da dieta nos parâmetros da fermentação ruminal e digestibilidade dos nutrientes em cabras em lactação. Os efeitos adversos da suplementação de lipídeos sobre a fermentação ruminal dependem da dieta basal, sendo mais comum naquelas à base de silagem de milho ou com menor inclusão de forragem (NRC, 2001).

3.1- GRÃO DE SOJA TOSTADO

O grão de soja (GS) é excelente fonte de proteína, e devido ao seu elevado teor de lipídeos, é também ótima fonte de energia. A soja possui teor médio de 40% de proteína bruta, 34% de carboidratos, 20% de óleo e 10% de minerais (Valadares Filho, et al., 2010).

O GS possui elevado teor de proteína degradável no rúmen (Santos et al., 1998) e seu processamento pela tostagem diminui a degradabilidade ruminal da proteína (aumento do teor de proteína não degradável no rúmen – PNDR), além de eliminar fatores antinutricionais. Por outro lado, processamentos como a extrusão, elevam a fração da PNDR, mas, concomitantemente promovem maior liberação do óleo, podendo interferir no metabolismo dos microrganismos ruminais (NRC, 2001). McNiven et al. (2004) relataram maior degradabilidade ruminal da soja extrusada quando esta foi comparada à soja tostada, demonstrando diferenças entre os tratamentos.

O tratamento térmico é um método físico-químico utilizado para aumento dos teores de PNDR, por facilitar a reação de *Maillard*, responsável pela menor degradação ruminal (Barnabé et al., 2007), mas disponibilizando aminoácidos para a digestão no intestino. O aumento dos teores de PNDR na dieta pode ser necessário em animais de alta produção, desde que as fontes dietéticas que serão processadas possuam bom perfil de aminoácidos essenciais e não causem diminuição da produção de proteína microbiana no rúmen (Santos et al., 1998).

O grão de soja tratado à temperatura de 150°C propiciou quantidades adequadas de PNDR (Garcia, 2005). Segundo Hsu & Satter (1995), a temperatura ideal para a tostagem da soja é de 146°C, com 30 min de *steeping* (armazenamento em recipiente térmico por tempo determinado após o processamento, para que o calor penetre mais profundamente dentro do grão). Entretanto, temperaturas de tostagem de 141°C, 149°C e 157°C não alteraram a concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH₃) e a disponibilidade intestinal de aminoácidos em novilhos, de acordo com Aldrich et al. (1985). Na literatura revisada, a temperatura de tostagem variou de 99 a 163°C por 1 ou 2 min, com ou sem *steeping* de 30 min (Stern et al., 1985; Reddy et al., 1993; Hsu & Satter, 1995; Garcia, 2005).

Reddy et al. (1993) avaliaram diferentes temperaturas de tostagem (99; 127; 132; 143; 146 e 163°C) do GS sobre os teores de PNDR (% da proteína total); proteína indigestível em detergente ácido – PIDA (% da proteína total) e atividade enzimática da lipase. As amostras tostadas à 132, 146 e 163°C sofreram *steeping* de 30 min. Os melhores resultados foram atribuídos às temperaturas 143 e 146°C, que propiciaram, respectivamente, 58 e 60% de PNDR; 4% de PIDA e pequena atividade da enzima lipase. As temperaturas 99; 127 e 132°C propiciaram menores teores de PNDR (43; 48 e 53%, respectivamente) e alta/média atividade da enzima lipase, enquanto que a temperatura de 163°C propiciou elevados teores para PNDR (69%) e PIDA (13%).

O GS possui vários fatores antinutricionais, destacando-se os inibidores enzimáticos, o ácido fítico e as enzimas lipase, lipoxidase e urease, que diminuem a disponibilidade dos nutrientes para o animal e daí, evidenciando, a importância do processamento térmico (Butolo, 2002).

Os trabalhos com inclusão de GS e GST na alimentação de ruminantes apresentam resultados variados quanto aos parâmetros fermentativos e a cinética de degradação ruminal.

Knapp et al. (1991) avaliaram diferentes teores de GST (0; 12; 18; 24% na MS da dieta) sobre os parâmetros da fermentação ruminal de vacas recebendo 50% de volumoso à base de silagem de milho e feno de alfafa. Os teores de extrato etéreo (EE) da dieta variaram de 3 a 7% da MS. Não houve efeito negativo sobre a fermentação ruminal e concentração de gordura do leite, demonstrando que a tostagem liberou o óleo lentamente e não alterou a degradação da fibra.

Tice et al. (1993) compararam o GS com o GST fornecidos como grão inteiro, quebrado ou moído, para vacas em lactação. Independente da forma de inclusão, o GS ou GST correspondeu a 19,7% da MS da dieta (em média, 5,4% de EE), sendo o volumoso a silagem de milho, constituindo 55% da dieta. O GS elevou a concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), devido à maior degradabilidade ruminal, porém não diferiu do GST quanto ao pH e a concentração dos ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen. A quebra ou moagem do GS e GST não alterou nenhum parâmetro ruminal. Os autores sugeriram que em dietas fornecidas como mistura total (concentrado misturado ao volumoso) não há efeito do tamanho de partícula do GS ou GST, pois não houve separação ou rejeição destes durante a ingestão da dieta.

Ipharraguerre et al. (2005) também não encontraram diferenças no pH, na concentração total de AGV e de N-NH₃ no rúmen de vacas em lactação quando compararam o farelo de soja e o GST em dietas baseadas em silagem de milho. O tratamento contendo GST incluiu 10% na MS da dieta (4,6% de EE).

A inclusão de 22% de GS na MS (ou de 6,4% EE na MS) da dieta de cabras recebendo feno de tifton 85 provocou diminuição nos teores de N-NH₃ ruminal, mas não alterou os outros parâmetros da fermentação ruminal, quando comparada aos tratamentos contendo farelo de soja (FS), óleo de soja e sais de cálcio de ácidos graxos de cadeia longa (Silva et al., 2007). Já Vasconcelos et al. (2010) encontraram maior valor de pH no rúmen de vacas recebendo GST, em comparação ao GS e FS. Reportaram ainda a redução nas concentrações de N-NH₃ com o tratamento GST, mas não observaram efeito sobre a

síntese de proteína microbiana no rúmen de vacas em lactação, recebendo silagem de milho como volumoso.

A tostagem do GS não influenciou a digestibilidade da fibra (Tice et al., 1993), mas tendeu a aumentar a digestibilidade dos ácidos graxos no trato digestivo total comparado ao GS (Tice et al., 1994). A tostagem também propiciou maiores digestibilidades ruminal e total dos ácidos graxos, e maior tempo de retenção de partículas sólidas no trato gastrointestinal (Silva et al., 2007). As diferentes temperaturas de tostagem (141, 149 e 157°C) do GS também não alteraram as digestibilidades totais da FDN e do EE em novilhos recebendo dieta à base de silagem de milho, contendo, em média, 6% de EE na MS (Aldrich et al., 1985a).

Silva et al. (2002) avaliaram as degradabilidades potencial e efetiva de diferentes tipos e formas de inclusão do GS (*in natura*; moído; desengordurado; ou apresentando alta e baixa concentração de inibidor de tripsina) e do farelo de soja em novilhos da raça Holandês manejados sob pastejo em capim coast-cross. Os autores concluíram que o GS com baixo teor de inibidor de tripsina e aquele convencional com ou sem gordura não influenciaram a degradabilidade potencial e efetiva da MS e podem substituir parcial ou totalmente o farelo de soja nas dietas para ruminantes.

A literatura revisada, quase em sua totalidade, reporta o uso de GST para vacas em lactação recebendo dietas à base de silagens. Avaliar o uso deste ingrediente em vacas sob pastejo é necessário, pois trata-se do sistema de produção de leite mais difundido nos trópicos e que carece de estratégias nutricionais que aumentem a produção e/ou otimizem a nutrição com melhorias da rentabilidade do sistema.

4 - MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Campo Experimental de Coronel Pacheco, de propriedade da Embrapa Gado de Leite, localizado no município de Coronel Pacheco (MG), no período de 06 de fevereiro a 10 de abril de 2009.

Utilizou-se quatro vacas Holandês x Gir, múltíparas, no terço inicial de lactação (79 ± 16 dias), com produção de leite de 21 ± 2 kg/dia, e 567 ± 39 kg de peso vivo. As vacas eram fistuladas no rúmen, e dotadas de cânulas de borracha natural de 110 mm de diâmetro interno (Kehl Ltda., São Carlos, SP).

Foi utilizado o delineamento em Quadrado Latino (QL) 4 x 4, sendo que cada fase foi constituída por 10 dias de período de adaptação à dieta e cinco para coleta de amostras.

Os tratamentos experimentais consistiram na inclusão de quantidades crescentes do grão de soja tostado (GST) na suplementação concentrada de vacas em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu sob manejo contínuo e foram assim descritos:

T0- suplementação concentrada sem GST (controle);

T1,3- suplementação concentrada contendo 1,3 kg de GST (base matéria natural - MN);

T2,6- suplementação concentrada contendo 2,6 kg de GST (base MN);

T3,9- suplementação concentrada contendo 3,9 kg de GST (base MN);

O GST (*TotalSoy*[®]) utilizado no experimento foi adquirido da Rações Total (Três Corações, MG). A tostagem seguiu os seguintes procedimentos: análise inicial para determinação da umidade do GS e passagem por peneira para retirada das impurezas. No tostador equipado com sistema de ventilação forçada, o GS passou pela esteira de tostagem com temperatura de 145 a 149 °C, por período de 30 a 45 segundos. Após a tostagem, o GST foi transportado para o tanque metálico onde permaneceu por 35 min à temperatura entre 100 a 140 °C, para homegeinização do calor e evitar combustão espontânea do produto (*steeping*). Do tanque o GST passou pela rosca de resfriamento, onde sofreu choque térmico por meio da água potável aspergida, com objetivo de reduzir e homogeneizar a temperatura. Após este procedimento, o GST seguiu para o silo de armazenamento, e só foi retirado, após período de 12 h de aeração, para que atingisse a temperatura ambiente.

Os animais receberam 6 kg/dia dos suplementos concentrados (base MN), em cochos eletrônicos individuais do tipo *calan gate* (*American Calan Inc.*, Northewwod, NH, EUA), fracionado em duas vezes ao dia após as ordenhas da manhã e da tarde, que iniciavam-se às 06:00 e 14:00 h, respectivamente.

O fornecimento do GST integral (sem moagem) na fase pré-experimental provocou a saída de grande quantidade do mesmo nas fezes das vacas. Por isso, durante todo o período experimental, o GST foi quebrado em moinho dotado com peneira com abertura de malha de 1 cm, antes de ser misturado ao concentrado.

Todas as vacas foram mantidas na mesma pastagem de 9,5 ha de capim-Marandu com disponibilidade mínima de forragem de 153 kg de matéria seca por vaca por dia.

A composição química dos suplementos concentrados e da dieta total estão demonstrados na Tabela 1. As dietas foram formuladas por meio do *software* Spartan (Michigan State University) e visaram ser isoproteicas e isoenergéticas. Na formulação considerou-se consumo individual de 15,1 e 9 kg/dia de MS total e de pasto, respectivamente, para produção de leite de 20 kg/vaca/dia.

No primeiro dia do período de adaptação de cada fase do QL foi coletada forragem selecionada na pastagem, utilizando-se uma vaca em lactação fistulada no esôfago, dotada de bolsa para coleta de extrusas. A bolsa utilizada foi confeccionada em lona impermeável, com furos para drenagem da saliva. A vaca em lactação foi previamente adaptada ao pastejo por, aproximadamente, sete dias e, não foi submetida a jejum previamente à coleta (Carvalho Filho, 1981). A duração da coleta foi de, aproximadamente, 40 min, e iniciava-se às 8:00 h, logo após a primeira ordenha.

Tabela 1- Ingredientes (kg), composição química (% da matéria seca -MS) dos suplementos concentrados e da dieta total com inclusão de quantidades crescentes de grão de soja tostado (GST)¹

Ingredientes (kg de MN) ²	T 0	T 1,3	T 2,6	T 3,9
GST	0	1,3	2,6	3,9
Farelo de soja	2,7	1,9	1,2	0,5
Milho moído	1,6	1,3	1,0	0,7
Polpa cítrica	1,6	1,3	1,0	0,7
Sup. mineral-vitamínico	0,2	0,2	0,2	0,2
Composição química dos concentrados (%MS) ²				
PB	28,5	30,4	30,9	32,9
FDN	16,8	17,4	21,0	20,1
FDA	9,1	9,3	11,1	10,8
EE	2,6	8,7	11,3	16,5
CNF	43,1	35,4	28,5	22,9
Cinzas	9,0	8,1	8,3	7,6
Composição química da dieta total (%MS)				
PB	15,0	14,9	15,1	15,0
FDN	47,7	50,4	53,3	56,0
FDA	27,5	29,3	31,2	33,0
EE	2,20	3,60	4,90	6,20
NDT	66,2	67,0	67,7	68,8
ELL (Mcal/kg)	1,40	1,40	1,50	1,50

¹Tratamentos: T0; T1,3; T2,6 e T3,9 - suplementos concentrados sem inclusão de GST e com inclusão de 1,3; 2,6 e 3,9 kg de GST (base matéria natural); ²MN = matéria natural; MS = matéria seca; PB = proteína bruta; FDN = fibra insolúvel em detergente neutro; FDA = fibra insolúvel em detergente ácido; EE = extrato etéreo; CNF = carboidrato não-fibroso; NDT = nutrientes digestíveis totais; ELL = energia líquida de lactação.

As amostras, imediatamente após o término das coletas diárias, foram acondicionadas em sacos plásticos, e armazenadas (-10°C). Posteriormente, foram descongeladas, pré-secadas (55°C, 72 h) e parte destas foram moídas (1 mm) e analisadas (Silva & Queiroz, 2002) quanto aos teores de matéria seca (MS) a 105°C, de proteína bruta (PB), de extrato etéreo (EE), de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e em detergente

ácido (FDA). Do restante das amostras das extrusas, aproximadamente, 6 kg foram igualmente pré-secadas e moídas em moinho de facas do tipo *Wiley* dotado de peneira com perfurações de 5 mm, sendo posteriormente utilizados para estimativa dos parâmetros de degradação ruminal (Nocek, 1988).

Foram realizadas amostragens dos suplementos concentrados, sendo estas transformadas em compostas representativas de cada suplemento em cada fase do QL e analisadas quanto aos teores de MS, PB, EE, FDN e FDA (Silva & Queiroz, 2002). Igualmente, foram coletadas e analisadas amostras dos ingredientes dos suplementos concentrados (polpa cítrica, fubá de milho e farelo de soja e GST). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram determinados pela diferença entre os carboidratos totais (CHOt) e a FDN. Os CHOt foram obtidos segundo Sniffen et al. (1992): $CHOt = 100 - (\%PB + \%EE + \%Cinzas)$.

No 11º dia de cada fase do QL, imediatamente antes (tempo zero) e 2; 4; 6; 8; 10; 12; e 24 h após o fornecimento da primeira parcela do suplemento concentrado, foram feitas amostragens individuais de líquido ruminal, coletadas de cinco pontos do rúmen. Após filtragem em gaze dupla e homogeneização, foi feita a leitura do valor de pH, com auxílio de potenciômetro digital portátil (duas casas decimais). Imediatamente após, com auxílio de pipeta automática, duas alíquotas de 10 mL de líquido ruminal foram adicionadas a tubos de ensaio providos de tampa, contendo 4 gotas de H₂SO₄ (50% v/v) ou 1 mL de ácido metafosfórico 25%. Tais amostras foram rigorosamente homogeneizadas e congeladas (-10°C), para respectivas análises de concentração de nitrogênio amoniacal (Official..., 1990), e concentração molar dos ácidos graxos voláteis (AGV) acético, propiônico e butírico, por meio de cromatografia gasosa, conforme citado por Lopes & Aroeira (1998). A relação acetato-propionato (A:P) foi determinada pela razão entre as concentrações molares de acetato e propionato no líquido ruminal.

No 12º dia de cada fase do QL, o material separado para o ensaio de degradação ruminal *in situ* foi incubado no rúmen de cada vaca, em sacos confeccionados em náilon (50 µ de abertura de malhas; 20 x 10 cm de dimensão), com, aproximadamente, 6 g de amostra, de modo a possibilitar relação entre 10 e 20 mg/cm² de área de saco (Nocek, 1988). Os sacos foram fechados, prendendo-os, um a um, a argolas de metal (2 cm de diâmetro interno) com auxílio de duas borrachas elásticas em cada. As argolas foram presas, em molhos (duas repetições/tempo), de acordo com os horários de incubação (sete), em argolas do tipo “chaveiro”. Estas, por sua vez, foram fixadas espaçadamente aos elos de uma corrente de metal, amarrada em sua extremidade a um fio de náilon

suficientemente longo para permitir que o conjunto alojasse-se no saco ventral do rúmen.

Imediatamente antes da incubação no rúmen, todos os sacos foram mergulhados em água (temperatura ambiente) por 30 min. Após este período, foram retirados aqueles referentes ao tempo zero, para estimativa da fração solúvel e partículas com tamanho reduzido que atravessassem os poros do náilon. Imediatamente foram congelados (-10°C). Os demais foram colocados no rúmen e retirados às 2; 6; 12; 24; 48; 72 e 96 h após a incubação. Assegurou-se que a retirada dos sacos de um tempo de incubação não interferisse naqueles que permaneceram no rúmen e, à medida que foram retirados, sofreram três rápidas imersões em água, sendo espremidos na mão, e armazenados em congelador. Posteriormente, todos os sacos foram descongelados, lavados simultaneamente para padronizar o processo e colocados em estufa de ventilação forçada (55°C), por 72 h. Após a secagem, foram pesados e os resíduos analisados quanto aos teores de MS, FDN e cinzas (Silva & Queiroz, 2002).

A estimativa da taxa de passagem da fase líquida foi realizada de acordo com Uden et al. (1980). Utilizou-se o Co-EDTA como indicador externo, fornecido em dose única de 5 g diluído em 200 mL de água destilada por animal e infundido através da cânula ruminal, em vários pontos no rúmen, antes do fornecimento da dieta. Antes (tempo 0) e após a infusão, amostras do fluido ruminal foram coletadas nos tempos 2, 4, 6, 8, 12 e 24 h após o fornecimento do suplemento. As determinações do Co nas amostras foram realizadas por meio da espectrofotometria de absorção atômica, conforme Colucci (1984). Para os cálculos das taxas de passagens foram utilizados os dados do desaparecimento ruminal do indicador em função do tempo, de acordo com o modelo citado por Colucci (1984): $Y_{Co} = A * e^{-(kl*t)}$ em que Y_{Co} = concentração do indicador no tempo t ; A = concentração de Co no tempo 0; kl = taxa de passagem ou de diluição do Co; e t = tempo de amostragem. Os parâmetros da dinâmica da fase líquida foram calculados de acordo com Colucci et al. (1990): $TR = 1/klCo$; $VLR = Co/A$ e $TF = klCo * VLR$ em que: $TR(h)$ = tempo de retenção no rúmen; $klCo(\%/h)$ = taxa de passagem do fluido; $VLR (l)$ = volume do líquido ruminal; $Co (mg)$ = quantidade de cobalto fornecida; $TF (l/h)$ = taxa de fluxo ruminal. A taxa de reciclagem (T_{Rec}) da fase líquida ruminal foi calculada conforme Maeng & Baldwin (1976): $T_{Rec} (n^{\circ} \text{ de vezes/dia}) = 24h/TR$.

Apesar de não ter sido objetivo principal deste estudo, também foi avaliado o desempenho (consumo de MS, produção, composição e perfil de AG do leite) das

quatro vacas conforme metodologias descritas nos capítulos 2 e 3. Os resultados encontram-se no Anexo.

As variáveis de fermentação ruminal foram analisadas pelo procedimento UNIVARIATE do SAS...(2002) quanto à distribuição da normalidade dos resíduos e da homocedasticidade das variâncias para verificar a necessidade de transformação dos resultados. Posteriormente, os dados originais ou transformados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento MIXED do SAS... (2002), segundo o delineamento QL 4 x 4, em esquema de parcelas subdivididas, com os tratamentos alocados nas parcelas e os tempos de amostragem nas subparcelas. O modelo para análise de variância incluiu como fontes de variação: vaca, fase, tratamento, tempo, a interação tratamento x tempo, além do resíduo. As comparações das médias foram realizadas pelo LSMEANS ($P < 0,05$) do SAS... (2002).

As estimativas dos parâmetros de degradabilidade ruminal *in situ* foram realizadas, ajustando o modelo não-linear descrito por Tomich & Sampaio (2004) sendo geradas curvas individuais, visando análises de regressão linear e quadrática dos parâmetros de degradação ruminal em função do nível de inclusão de GST nos concentrados. As degradabilidades efetivas (DE) da MS, MO e FDN da extrusa de capim-braquiária foram calculadas conforme proposto por Øskorv & McDonald (1979), utilizando valor de taxa de passagem ruminal de 5%/h.

Para as demais variáveis, os efeitos da quantidade de GST no concentrado foram avaliados por meio de análises de regressão linear e quadrática pelo PROC REG do SAS... (2002), sendo considerados significativos quando $P < 0,05$.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição química da extrusa do capim-brachiária apresentou 12,6% de MS e 10,8%; 69,7%; 35%; 1,2%; 5% e 8,9%, respectivamente, para PB; FDN; FDA; EE; lignina e cinzas (base da MS). Estes valores estão próximos daqueles relatados por Lopes et al. (2011) para extrusa de capim-braquiária (12,2% de MS; 10,2% de PB e 66,8% de FDN, base da MS).

Os resultados dos parâmetros de fermentação ruminal em função do tempo de coleta são apresentados na Tabela 2. A interação tratamento *versus* tempo de amostragem não foi significativa para nenhum dos parâmetros ruminais ($P > 0,05$). Foi observado efeito

($P < 0,05$) do tempo de amostragem sobre as concentrações de $N-NH_3$ e de propionato, e nas proporções molares de propionato e butirato (Tabela 2).

Tabela 2 - Efeito do tempo de amostragem sobre o pH e concentrações de nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) e de ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado

Tempo	Parâmetros de fermentação ruminal ^{a, b}									
	pH	$N-NH_3$	Acet	Prop	But	AGV	A:P	Acet%	Prop%	But%
0	5,99	13,87 ab	62,01	15,52ab	8,09	85,62	4,04	72,51	18,07 ab	9,24 a
2	5,95	13,61 ab	59,12	14,53ab	8,29	81,94	4,10	72,18	17,70 ab	10,11 c
4	5,97	12,81 ab	60,11	14,67ab	8,26	83,04	4,12	72,44	17,67 ab	9,89 bc
6	5,98	11,81 a	58,78	14,30ab	7,84	80,92	4,16	72,71	17,60 ab	9,69 abc
8	5,98	12,38 ab	56,02	13,41a	7,88	77,30	4,21	72,47	17,34 a	10,19 c
10	5,95	13,17 ab	57,31	13,72ab	7,93	78,96	4,22	72,66	17,32 a	10,03 bc
12	5,90	16,06 b	60,30	14,92ab	8,50	83,72	4,06	72,06	17,81 ab	10,13 c
24	5,98	15,94 b	61,50	15,66b	8,09	85,24	3,99	72,27	18,25 b	9,48 ab
EPM ^c	0,0447	0,9286	1,7097	0,6165	0,3331	2,5728	0,0860	0,3245	0,2843	0,1553

^a $N-NH_3$ = nitrogênio amoniacal (mg/100 mL); Acet, Prop e But, respectivamente, acetato, propionato e butirato (mMol/100 mL); AGV (ácidos graxos voláteis totais (mMol/100 mL); A:P = relação acetato:propionato; e Acet%, Prop% e But% = concentrações molares (%) de acetato, propionato e butirato, respectivamente; ^bMédias na mesma coluna seguidas de letras iguais são semelhantes ($P > 0,05$).

^cEPM = Erro-padrão da média.

A concentração de $N-NH_3$ após o fornecimento do concentrado apresentou o menor valor no tempo 6 h. Em comparação a este, houve incremento nas concentrações de $N-NH_3$ nos tempos 12 e 24 h (Tabela 2). Em nenhum momento do dia a concentração de $N-NH_3$ foi inferior à 5 mg/100 mL considerada limitante ao crescimento microbiano no rúmen (Satter & Slyter, 1974). Segundo Owens & Zinn (1988), existe variação na concentração de $N-NH_3$ nos horários após a alimentação, cuja intensidade depende do tipo de alimento, com a absorção de $N-NH_3$ ruminal aumentando à medida que sua concentração no rúmen se eleva.

No presente estudo, a suplementação concentrada ocorreu logo após as coletas dos tempos 0 e 8 h, e os maiores valores de $N-NH_3$ ocorreram nos tempos 12 e 24 h, apresentando, portanto, comportamento diferente após as duas suplementações diárias. Estes resultados, em parte, podem ser explicados pelo comportamento das vacas ao longo do dia. Provavelmente, houve maior ingestão de MS no período noturno, pois as

vacas permaneciam dentro do piquete, além do provável melhor conforto térmico, quando comparada às observadas no período diurno.

A concentração diária máxima de amônia ruminal relaciona-se com a maior ingestão de PB, enquanto que a menor relaciona-se com a maior utilização/absorção. Segundo Carvalho et al. (2010), a concentração ótima de N-NH₃ ruminal é extremamente variável, pois dependerá da quantidade de energia disponível na dieta.

Não foi verificada grande disparidade entre o maior e o menor valor (16,06 e 11,81 mg/100 mL) de N-NH₃ ruminal, demonstrando que a dieta proporcionou equilíbrio no metabolismo energético-nitrogenado dentro do rúmen. Outros autores relataram amplitude maior ou semelhante à observada no presente estudo, tais como 5,2 a 35 mg/dL (Franco et al., 2002); 16,85 a 20,80 mg/dL (Garcia et al., 2007); 2,68 a 14,5 mg/dL Pereira et al. (2008b) ao trabalharem com bovinos sob pastejo de diferentes gramíneas suplementadas com concentrado.

O efeito do tempo de amostragem sobre a concentração total e molar de propionato foi observado entre os tempos 8 e 10 h após o fornecimento da primeira parcela de concentrado, em relação ao tempo de 24 h (Tabela 2). A concentração molar de butirato apresentou valor mais baixo imediatamente antes do fornecimento do concentrado (tempo 0 h), elevando-se a partir de então, com pontos máximos observados nos tempos 2, 8 e 12 h. O efeito do tempo de coleta na concentração total de propionato e na concentração molar do propionato e butirato *per se* não implicou em efeitos para o ambiente ruminal, podendo ser consideradas variações normais da fisiologia ruminal, pois não foram acompanhadas da mudança da concentração molar do acetato e de nenhuma alteração na concentração total de acetato, butirato e dos AGV totais no período de 24 h. Além disso, a variação da concentração total de propionato também não alterou a relação A:P ao longo do dia. Esta relação é indicativa da eficiência energética ruminal, pois quando aumenta, refere-se à maior perda de energia na forma de metano e menor aproveitamento da energia do alimento pelo animal (Van Soest, 1994).

A relação molar de acetato:propionato:butirato foi de 72:18:10. Trabalhos com vacas sob pastejo de diferentes gramíneas de clima tropical suplementadas com concentrado relataram relações de 62:23:15 (Campos et al., 2007); 76:15:9 (Mota et al., 2010) e de 70:22:8 a 67:27:6 (Garcia et al., 2007). Já na revisão feita por Bargo et al. (2003), foi observada relação de 65:20:15, para vacas pastejando diferentes gramíneas de clima temperado suplementadas com concentrado. A proporção molar dos principais AGV no fluido ruminal varia de 75:15:10 a 40:40:20 dependendo do tipo e da taxa de passagem

da dieta (Bergman, 1990), e a relação encontrada no presente trabalho encontrou-se dentro desta faixa.

A concentração de AGV totais foi de 82 mM/L. A concentração fisiológica normal de AGV ruminal varia diariamente de 70 a 150 mM/L, principalmente em vacas de alta produção leiteira, sendo dependente da dieta e do tempo após a alimentação, com a concentração máxima sendo atingida, normalmente, entre 10 a 14 h após alimentação (Pereira & Armentano, 2000). Em dietas ricas em carboidratos não estruturais pode atingir 200 mM/L, enquanto que naquelas ricas em carboidratos fibrosos pode estar abaixo de 100 mM/L (Bergman, 1990). As vacas no presente experimento pastejaram *B. brizantha* manejada sob lotação contínua, apresentando alto teor de FDN (69,7% da MS), corroborando com a citação acima. Alvarez et al. (2001) encontraram valor de 90 mM/L em vacas pastejando gramíneas de inverno com diferentes suplementações concentradas.

O pH não se alterou ao longo do dia, indicando que houve tamponamento natural do ambiente ruminal com saliva produzida pelos processos de mastigação e ruminação. Ademais, a concentração de AGV totais, importante em modular o pH ruminal, também não se alterou ao longo do dia, como também demonstrado no trabalho de Campos et al. (2007).

O pH médio de 5,96 encontrou-se dentro da faixa (5,5 a 6,5) normalmente observada para animais recebendo elevada quantidade de concentrado (Campos et al., 2007). O fornecimento de 6 kg/dia de concentrado (fracionado em duas vezes ao dia) não reduziu o pH em menos do que 5,9 (12h) e apresentou pequena variação (5,90 a 5,98) ao longo do dia.

Mota et al. (2010) suplementaram vacas Holandês x Zebu em lactação sob pastejo recebendo até 5,4 kg de MS/dia de concentrado contendo GST, e encontraram pH mínimo de 6,47. Campos et al. (2007) encontraram valores médios de pH de 6,2 (5,9 a 6,41) em vacas em lactação sob pastejo recebendo 4 kg/dia de concentrado. Já Franco et al. (2002) encontraram pH médio de 6,4 (5,27 a 7,41) em novilhos mestiços sob pastejo em *B. brizantha* com suplementação máxima de 1,5 kg/dia de concentrado. Estes trabalhos contemplaram suplementações de concentrados menores e/ou similares, mas com maior variação do pH ao longo do dia quando comparada à observada no presente estudo, demonstrando que apesar do menor pH médio, houve estabilidade e tamponamento adequado do rúmen.

Os parâmetros de degradação ruminal *in situ* são apresentados na Tabela 3. De modo geral, a inclusão de óleos vegetais ricos em AG poli-insaturados em dietas de vacas em

lactação provoca decréscimo na digestibilidade da FDN no rúmen (Shingfield et al., 2008). No entanto, no presente estudo, não foi observado efeito ($P>0,05$) da quantidade do GST no concentrado sobre os parâmetros de degradação ruminal da MS, MO e FDN da extrusa de capim-brachiária.

Tabela 3 – Degradabilidades potencial (A) e efetiva (DE), tempos de colonização (LAG) e taxas de degradação (c) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) da extrusa de *Brachiaria brizantha* de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado

Parâmetro	Nutriente	Concentrados				EPM ^a	Valor de P	
		T0	T1,3	T2,6	T3,9		L ^b	Q ^c
A (%)	MS	85,4	85,6	85,8	86,4	0,675	ns ^d	ns
c (%/h)	MS	3,64	3,74	3,92	3,41	0,295	ns	ns
LAG (h)	MS	5,5	5,1	5,3	3,8	0,571	ns	ns
DE ^c (%)	MS	50,3	50,8	51,4	49,8	1,099	ns	ns
A (%)	MO	85,8	86,0	86,1	87,0	0,874	ns	ns
c (%/h)	MO	3,68	3,85	3,97	3,42	0,297	ns	ns
LAG (h)	MO	5,4	5,0	5,2	3,8	0,581	ns	ns
DE ^c (%)	MO	49,1	49,7	50,1	48,4	1,109	ns	ns
A (%)	FDN	83,2	83,8	84,7	85,2	1,208	ns	ns
c (%/h)	FDN	3,76	3,91	3,80	3,46	0,308	ns	ns
LAG (h)	FDN	5,0	4,9	4,9	3,5	0,761	ns	ns
DE ^c (%)	FDN	40,2	40,8	40,7	39,4	1,197	ns	ns

^aEPM = Erro-padrão da média; ^bL = efeito linear; ^cQ = efeito quadrático; ^dns = não-significativo ($P>0,05$); ^eDEs calculadas utilizando taxa de passagem no rúmen de 5%/h

A média dos valores para degradabilidade potencial (DP), tempo de colonização (*Lag*) e degradabilidade efetiva (DE), considerando taxa de passagem de 5%/h para MS, MO e FDN foram, respectivamente, de 86; 86,5 e 84,2%; 4,9; 4,8 e 4,5 h; 50,5; 49,3 e 40,3 %. Lopes et al. (2003) relataram valores semelhantes aos do presente estudo para degradação de MS de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum.). Os valores médios para a DP, taxa “c” e DE foram de 83,7 e 79,2%; 3,5 e 3,2%/h; 52,7 e 43,3%, respectivamente para MS e FDN. Outros trabalhos, relataram menor degradação ruminal *in situ* de MS e FDN para a *B. brizantha* cv. Marandu (Franco et al., 2002; Moreira et al., 2009; Lopes et al., 2010). Nestes estudos foram relatadas variações da

DP (74,6 a 79,4% e 65,7 a 76,8%), respectivamente, para MS e FDN. Da mesma forma, a taxa “c” (2,1 a 3,0%) e a DE (28,4 a 41,4%) apresentaram variações médias menores que as do presente estudo, tanto para MS quanto para FDN. Benedetti et al. (2008) também relataram menor degradação ruminal para as extrusadas de três gramíneas tropicais (*Panicum maximum* cv. Colonião; *B. decumbens*; e *P. purpureum* cv. Napier). As médias para a DP, taxa “c” e DE foram de 74,1 e 79,7%; 5,1 e 5,0%; 42,0 e 42,2%, respectivamente, para MS e FDN.

As menores degradações encontradas nestes experimentos em relação às observadas no presente estudo podem ter sido decorrentes dos maiores teores de lignina e/ou pela menor/ausente suplementação concentrada. O fornecimento parcelado de 6 kg/dia de concentrado favoreceu a maior degradação da MS, MO e do FDN encontrada no presente estudo. Provavelmente, o modo de fornecimento do óleo, por meio do GST, tenha minimizado o efeito negativo que os AG poli-insaturados livres normalmente provocam sobre a microbiota do rúmen e, por conseguinte, sobre o ambiente e os parâmetros de degradação ruminal.

Não houve efeito ($P>0,10$) da suplementação crescente de GST na taxa de passagem de fase líquida (10,4 %/h), tempo de reciclagem (9,9 h), taxas de reciclagem (2,5 vezes por dia) e de fluxo (15 L/h). Porém, para o volume de líquido ruminal (VLR) houve efeito linear negativo ($P=0,09$) em função da suplementação lipídica (Tabela 4).

A taxa de passagem de fluídos no rúmen pode variar conforme a ingestão, proporção do concentrado, indicador utilizado e locais de amostragem (Owens & Goetsch, 1988). Mota et al. (2009) não encontraram diferenças na taxa de passagem da fase líquida de vacas da raça Holandês em lactação, sob pastejo em *Cynodon dactylon* cv. Coast cross recebendo 3 ou 6 de concentrado/dia. Os valores para taxa de passagem (11,3%/h), tempo de reciclagem (9,1 h) e taxa de reciclagem (2,6 vezes por dia) foram semelhantes aos encontrados no presente estudo, porém com menor VLR (60 L) e taxa de fluxo (6,7 L/h). Campos et al. (2007) forneceram 4 kg/dia de concentrado a vacas em lactação sob pastejo de três gramíneas (capim Napier, *Brachiaria* e Colonião) e não encontraram efeito significativo sobre a cinética ruminal de fase líquida. O VLR (76,5 L) e taxa de fluxo (10,6 L/h) foram menores que as observados no presente estudo, mas com maiores valores de taxas de passagem (14,5%/h) e de reciclagem (3,5 vezes por dia), e menor tempo de reciclagem (7,3 h). Os dois trabalhos apresentaram menores taxas de fluxo, pois este parâmetro é dependente do VLR, que foi bem maior neste trabalho.

Tabela 4 – Parâmetros da cinética ruminal de trânsito da fase líquida no rúmen de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado

Parâmetro ¹	Concentrados				EPM ²	Equação de Regressão
	T0	T1,3	T2,6	T3,9		
Kp, %/h	9,75	10,96	9,86	11,2	0,492	ns ³
VLR, litros	158,7	142,8	150,6	133,2	8,525	$\hat{y} = 156,6 - 5,28(r^2 = 0,13)$
TR, h	10,74	9,26	10,32	9,46	0,474	ns
TRec, n ^o /24 h	2,34	2,63	2,37	2,69	0,118	ns
TF, litros/h	14,93	15,68	14,70	14,92	0,593	ns

¹Kp = taxa de passagem da fase líquida no rúmen; VLR = volume de líquido ruminal; TR = tempo de reciclagem ($1/k_p$); TRec = taxa de reciclagem ($24/TR$) e TF = taxa de fluxo ($V \cdot k_p$); ²EPM = Erro-padrão da média; ³ns = não-significativo ($P > 0,10$);

Quando expresso em porcentagem do peso vivo (%PV), o VLR variou de 23 a 27% entre os tratamentos, pouco acima da faixa de variação (15 a 21%) relatada por Owens & Goestch (1988) para bovinos. Os autores atribuem esta variação à quantidade de concentrado fornecida, à relação volumoso:concentrado (V:C), ao consumo, bem como ao indicador utilizado e à qualidade da forragem. Valores fora desta faixa de variação também foram encontrados por outros autores. Martins et al. (2006) encontraram 29 L e 8,5%, respectivamente, para o VLR expresso em litros e em %PV, em novilhos alimentados com silagem de milho ou feno de capim coast-cross. Lemenager et al. (1978) e Jacques et al. (1987) obtiveram VLR de 56 e 147 L, correspondentes a 23 e 24%PV, respectivamente. Os dois trabalhos foram realizados com novilhos em pastagem de gramínea de inverno e com adição de ionóforos. Os autores atribuíram estes valores à baixa qualidade do pasto e ao baixo consumo de MS que resultou em menor taxa de passagem. Além disso, as características do volumoso e a relação V:C influenciam a salivação, e segundo Campos et al. (2007), tanto as particularidades do volumoso quanto o estado fisiológico dos animais influenciam o enchimento ruminal. No presente estudo, diante dos dados avaliados, a causa da redução do VLR com a concomitante a adição de GST, não pôde ser identificada. É pouco provável que tenha havido diferenças na salivação, pois não houve efeito ($P > 0,05$) dos concentrados experimentais, sobre o consumo de MS e FDN (Anexo).

6 – CONCLUSÃO

O fornecimento de 6 kg/vaca/dia de concentrado contendo até 3,9 de GST para vacas manejadas sob pastejo de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu não alterou os parâmetros da fermentação ruminal e nem da cinética da digestão. A inclusão de até 7,2% de EE não alterou a digestibilidade da fibra.

Estes resultados podem trazer informações importantes em situações que necessitem de formulação de dietas com maior densidade energética por meio da utilização de ingredientes ricos em óleo em substituição às fontes de amido.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDRICH, C.G.; MERCHEN, N.R.; NELSON, D.R. et al. The effects of roasting temperature applied to whole soybeans on site of digestion by steers. II. Protein and amino acid digestion. *Journal of Animal Science*, v.73, p.2131-2140, 1985.

ALVAREZ, H.J.; SANTINI, F.J.; REARTE, D.H. et al. Milk production and ruminal digestion in lactating dairy cows grazing temperate pastures and supplemented with dry cracked corn or high moisture corn. *Animal Feed Science and Technology*, v.91, p.183-195, 2001.

BARGO, F.; MULLER, L.D.; KLVER, E.S. et al. Invited review: Production and Digestion of Supplemented dairy cows on pasture. *Journal of Dairy Science*, v.86, p.1-42, 2003.

BARNABÉ, E.C.; SANTOS, F.A.P.; BITTAR, C.M.M. Fontes protéicas e energéticas com diferentes degradabilidades ruminais para vacas em lactação. *Acta Scientiarum Animal Science*, v.29, p.209-216, 2007.

BATEMAN, H.G.; JENKINS, T.C. Influence of soybean meal oil in high fiber diets fiber diets fed to nonlactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. *Journal of Dairy Science*, v.81, p.2451-2458, 1998.

BAUMAM, D.E.; PERFIELD, J.W.; HAVARTINE, K.J. et al. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acids: lactation and ruminant model. *Journal of Nutrition*, v. 138, p. 40-409, 2008.

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

BENEDETTI, E.; RODRIGUEZ, N.M.; CAMPOS, W.E. et al. Digestibilidade *in vitro* e *in situ* de três forrageiras tropicais colhidas manualmente e por vacas fistuladas no esôfago. *Acta Scientiarum Animal Science*, v.30, p.203-210, 2008.

BUTOLO, J.E. Qualidade de ingredientes na alimentação animal. 2ed. Campinas:Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2002, 430p.

- BYERS, F.M.; SCHELLING, G.T. Los lípidos em la nutrición de los rumiantes. In: CHURCH, D.C. (Ed). *El rumiante: fisiología digestiva y nutrición*. Zaragoza: Acribia, 1988. p. 339-356.
- CAMPOS, W.E.; BENEDETTI, E.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Cinética ruminal de vacas leiteiras a pasto consumindo diferentes gramíneas tropicais. *Archivos de Zootecnia*, v.56, p.829-837, 2007.
- CARVALHO FILHO, O.M. de. *Uso e manejo de bovinos fistulados no esôfago em ensaios de pastejo*. Petrolina, PE: EMBRAPA/CPATSA, 1981. 24p. (EMBRAPA/CPATSA. Documentos, 8).
- CARVALHO, D.M.; ZEVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S. Suplementação de bovinos em sistema de pastejo: aspectos relacionados a forragem e ao uso de fontes alternativas de energia para suplementos múltiplos. *Uniciências*, v.14, p.241-270, 2010.
- CENKVARI, E.; FEKETE, S.; FEBLE, H. et al. Investigation on the effects of Ca-soaps of oil linseed on rumen fermentation in sheep on milk composition of goats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v.89, p.172-178, 2005.
- COLUCCI, P.E. *Comparative digestion and digesta kinetics in sheep and cattle*. Guelph: University of Guelph, 1984. 221p. Thesis (Ph.D. Thesis Animal Science) – University of Guelph, 1984.
- COLUCCI, P.E.; MACLEOD, G.K.; GROVUM, W.L. et al. Digesta kinetics in sheep and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low intakes. *Journal of Dairy Science*, v.73, p.2143-2156, 1990.
- COSTA, M.G. *Rações com diferentes fontes de gordura para vacas em lactação*. 2008. 119f. Tese de Doutorado em zootecnia – UFV, Viçosa, Minas Gerais.
- FRANCO, G.L.; ANDRADE, P.A.; BRUNO FILHO, J.R. et al. Parâmetros ruminais e desaparecimento da FDN da forragem em bovinos suplementados em pastagem na estação das águas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 31, p.2340-2349, 2002.
- GARCIA, W.R. *Processamento da soja grão e do caroço de algodão em dietas de vacas leiteiras*. 2005. 91f. Tese de doutorado em zootecnia-UFLA, Lavras, Minas Gerais.
- GARCIA, G.G.; REIS, R.B.; PEREIRA, A.B.D. et al. Produção e composição de leite de vacas em pastagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) suplementado com diferentes fontes de carboidratos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.62, p.875-882, 2010.
- HSU, J.T.; SATTER, L.D. Procedures for measuring the quality of heat-treated soybeans. *Journal of Dairy Science*, v.78, p.1353-1361, 1995.
- JACQUES, K.A.; COCHRAN, R.C.; CORAH, L.R. Influence of lasalocid level on forage intake, digestibility, ruminal fermentation, liquid flow and performance of beef cattle grazing winter range. *Journal of Animal Science*, v.65, n.3, p.777-85, 1987.
- JENKINS, T.C.; WALLACE, R.J.; MOATE, P.J. et al. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids with the rumen microbial ecosystem. *Journal of Animal Science*, v.86, p.397-416, 2008.

- KNAPP, D.M.; GRUMMER, R.R.; DENTINE, M.R. The response of lactating dairy cows to increasing levels of whole roasted soybeans. *Journal of Dairy Science*, v.74, p.2563-2572, 1991.
- LEMENAGER, R.P.; OWENS, E.N.; SHOCKEY, B.J. et al. Monensin effects on rumen turnover rate, twenty four hour VFA pattern, nitrogen components and cellulose disappearance. *Journal of Animal Science*, v.47, p.255-261, 1978.
- LOPES, F.C.F.; AROEIRA, L.J.M. Consumo, digestibilidade e degradabilidade do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) picado e seu efeito sobre características do rúmen em vacas mestiças. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.50, p.593-599, 1998.
- LOPES, F.C.F.; AROEIRA, L.J.M.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Degradação ruminal *in situ* do capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schumack) consumido sob pastejo por vacas mestiças Holandês x Zebu em lactação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.55, p.694-701, 2003.
- LOPES, F.C.F.; BARROS, P.A.V.; BRUSCHI, J.H.; et al. Perfil de ácidos graxos no leite de vacas Holandês em pastagens tropicais suplementadas com dois níveis de concentrado. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.63, p. 518-521, 2011.Comunicação.
- MAENG, W.J; BALDWIN, R.L. Dynamics of fermentation of a purified diet and microbial growth in the rumen. *Journal of Dairy Science*, v.59, p. 636-642, 1976.
- MAIA, F.J.; BRANCA, A.F.; MOURO, G.F. et al. Inclusão de fontes de óleo na dieta de cabras em lactação: digestibilidade dos nutrientes e parâmetros ruminais e sanguíneos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, p. 1496-1503, 2006.
- MARTINS, A.S.; VIEIRA, P.F.; BERCHIELLI, T.T. et al. Taxa de passagem e parâmetros ruminais em bovinos suplementados com enzimas fibrolíticas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, p.1182-1193, 2006 (supl.).
- McNIVEN, M.A.; DUYNISVELD, J.; CHARMLEY, E. et al. Processing of soybean affects meat fatty acid composition and lipid peroxidation in beef cattle. *Animal Feed Science and Technology*, v.116, p.175-184, 2004.
- MOREIRA, G.R.; SALIBA, E.O.S.; MAURÍCIO, R.M. et al. Avaliação da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em sistemas silvipastoris. *Arquivo Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.61, p.706-713, 2009.
- MOTA, M.F.; SANTOS, F.T; VILELA, D. et al. Dinâmica da fase sólida e líquida no trato gastrointestinal de vacas leiteiras em pastagem tropical. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.10, p. 501-512, 2009.
- MOTA, M.F.; VILELA, D.; SANTOS, G.T. et al. Parâmetros ruminais de vacas leiteiras mantidas em pastagem tropical. *Archivos de Zootecnia*, v.59, p.1-8, 2010.
- NOCEK, J. E. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility. A review. *Journal of Dairy Science*, v.71, p.2051-2069, 1988.

NRC-NATIONAL RESEARCH COUNCIL, *Nutrient requirements of dairy cattle*. 1.ed. Washington, D.C.:National Academy, 2001.

OFFICIAL *Methods of analysis*. 15 Ed., Arlington, VA: AOAC, 1990. 1141p.

ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, v.92, n.2, p.499-503, 1979

OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Ruminant fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed.). *The ruminant animal digestive physiology and metabolism*. New Jersey: Prentice Hall, 1988. p. 145-171.

OWENS, F.N.; ZINN, R. Metabolismo de la proteína em los ruminantes. In: CHURCH, D.C. (Ed.). *El ruminante: fisiología digestiva y nutrición*. Ed. Acriba, Zaragoza, 1988, 255f.

PEREIRA, M.N.; ARMENTANO, L.E. Partial replacement of forage with nonforage fiber sources in lactating cow diets. II. Digestion and rumen function. *Journal of Dairy Science*, v.83, p.2876-2875, 2000.

PEREIRA, J.R.A.; REIS, R.A.; BERCHIELLI, T.T. et al. Suplementação de bovinos mantidos em pasto diferido de *Brachiaria brizantha* (cv. Marandu): parâmetros ruminais e degradabilidade. *Acta Scientiarum Animal Science*. v. 30, p.317-325, 2008.

REDDY, P.V.; MORRILL, J.L.; BATES, L.S. Effect of temperatures on soybean utilization by young dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v.76, p.1387-1393, 1993.

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

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

SANTOS, J.E.P. Uso de gordura em dietas de vacas no pré-parto e em lactação. In: Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos. 14. 2010. Uberlândia.. *Anais...Uberlândia:CONAPECJR*, 2010, p.99-119.

SATTER, L. D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration in rumen microbial protein production *in vitro*. *British Journal of Nutrition*, v.32, n.2, 199-205, 1974.

SHINGFIELD, K.J.; AHVENJRVIL, S.; TOIVONEN, V. et al. Effect of incremental levels of sunflower-seed oil in the diet on ruminal lipid metabolism in lactating cows. *British Journal of Nutrition*, v.99, p.971-983, 2008.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. *Análise de alimentos.: métodos químicos e biológicos*. 3 ed. Viçosa: UFV, 2002, 235p.

SILVA, L.D.F.; RAMOS, B.M.O.; RIBEIRO, E.L.A. et al. Degradabilidade ruminal *in situ* da matéria seca e proteína bruta de duas variedades de grão de soja com diferentes

teores de inibidor de tripsina, em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, p.1251-1257, 2002.

SILVA, M.M.C.; RODRIGUES, M.T.; RODRIGUES, C.A.F. et al. 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.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.

SOUZA, A.R.D.L.; MEDEIROS, S.R.; MORAIS, M.G. et al. Dieta com alto teor de gordura e desempenho de tourinhos de grupos genéticos diferentes em confinamento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.44, p. 746-753, 2009.

STATISTICAL analyses systems – SAS: User's guide: Statistics, Version 5.ed. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2002.

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 head-treated whole soybeans. *Journal of Dairy Science*, v.68, p.45-56, 1985.

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

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.166-180, 1994.

TOMICH, T.R.; SAMPAIO, I.B.M. A new strategy for the determination of forage degradability with an in situ technique through the use of a fistulated ruminant. *Journal of Agricultural Science*, v.142, p.589-593, 2004.

TURPEINEN, A.M; MUTANEN, M; ARO, A. et al. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in Humans. *American Journal Clinical Nutrition*, v.76, p. 504–510, 2002.

UDÉN, P.; COLUCCI, P.E.; VAN SOEST, P.J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta rate of passage studies. *Journal Science and Food Agriculture*, v.31, p.625-632, 1980.

VALADARES FILHO, S.C., MACHADO, P.A.S.; CHIZZOTTI, M.L. et al. *Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos*, 3.ed. UFV, DZOO, 2010, 502 p.

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

CAPÍTULO 2

CONSUMO, PARÂMETROS SANGUÍNEOS, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE DE VACAS HOLANDÊS X GIR SOB PASTEJO EM *BRACHIARIA BRIZANTHA* CV. MARANDU SUPLEMENTADA COM GRÃO DE SOJA TOSTADO

Resumo

Avaliou-se o efeito da quantidade crescente de grão de soja tostado (GST) em substituição ao farelo de soja sobre o consumo de matéria seca (MS) e da fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), metabólitos sanguíneos, produção e composição do leite de vacas Holandês x Gir em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. O experimento foi realizado na Embrapa Gado de Leite (Coronel Pacheco-MG) em delineamento Quadrado Latino (QL) 4 x 4 utilizando-se dezesseis vacas recebendo 6 kg/vaca/dia de concentrados contendo 0; 1,3; 2,6 e 3,9 kg de GST (base matéria natural), que consistiram os tratamentos experimentais. Para a estimativa do consumo de MS foi utilizado o óxido crômico (Cr_2O_3) como indicador externo e a digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS). A produção individual diária de leite foi registrada durante cinco dias em cada fase do QL, sendo realizadas amostragens para análise da composição do leite (gordura, proteína, extrato seco desengordurado, extrato seco total, lactose e ureia). Foram também coletadas amostras de sangue, para determinação das concentrações plasmáticas de glicose e de ácidos graxos não esterificados (NEFA). Houve redução linear ($P < 0,05$) da suplementação de GST sobre o consumo de MS e FDN (total e de pasto). As vacas que receberam o suplemento contendo 3,9 kg GST/vaca/dia reduziram o consumo de MS e FDN e a DIVMS respectivamente, em 11,6; 14,7 e 11,3%, quando comparadas às que receberam o suplemento sem a inclusão de GST no suplemento concentrado. Não houve diferença na concentração de glicose ($P > 0,05$), porém a de NEFA aumentou linearmente ($P < 0,05$) com a inclusão de GST na dieta. Não houve efeito ($P > 0,10$) do GST na produção e composição do leite, exceto para o aumento linear sobre o teor ($P = 0,08$) e a produção de gordura do leite ($P = 0,10$). A produção média do leite foi de 20,2 L/vaca/dia e comparando-se as vacas que receberam os tratamentos contendo 0 e 3,9 kg/vaca/dia de GST, houve aumento de 6,6 e 8,8% no teor e na produção de gordura do leite, respectivamente. O incremento crescente de GST no suplemento concentrado de vacas propiciou maior eficiência

alimentar (kg de leite/kg de MS ingerida) sendo de 1,36; 1,37; 1,42 e 1,58 para os tratamentos contendo 0; 1,3; 2,6 e 3,9 kg/vaca/ dia de GST, respectivamente.

Palavras-chave: gramínea tropical, lipídeos; tostagem, desempenho

Abstract

The objective was to evaluate the effect of increasing levels of roasted soybean seeds (RSB) replacing soybean meal on intake of dry matter (DM) e neutral detergent fiber (NDF), blood parameters, milk production and composition of crossbred Holstein x Gir cows grazing *Brachiaria brizantha* cv. *Marandu*. The experiment was conducted at Embrapa Dairy Cattle Research Center (Coronel Pacheco, Minas Gerais) in a randomized Latin square design 4 x 4 with sixteen cows supplemented with concentrate with 0, 22, 43 or 65 % of RSB. There was linear decrease ($P<0.05$) of the RSB supplementation on DM and NDF intake. Cows receiving the supplement containing 65 % of RSB of the concentrate reduced the DM, NDF intake and IVDMD respectively, 11.6, 14.7 and 11.3%, compared to cows receiving the supplement without the RSS inclusion. Glucose concentration did not differ ($P>0.05$), but the NEFA concentration linearly increased ($P<0,05$) with RSB inclusion on the diet. No effect ($P>0.10$) of the RSB supplement on milk production and composition, except for the linear increase of the milk fat percentage ($P=0.08$) and the production ($P=0.10$). The average milk production was 20.2 kg/cow/day and cows receiving treatments containing 0 and 65% RSB in the concentrate showed an increase of 6.6 and 8,8% of the milk fat content and production, respectively. The increase of RSB in the concentrate of cows, provided higher daily feed efficiency (milk kg / DM intake kg) of 1.36, 1.37, 1.42 and 1.58 for treatments containing 0, 22, 43 or 65% of RSB in the concentrate.

Key-words: tropical grass, lipids, roasting, performance

1 - INTRODUÇÃO

A pecuária de leite exige cada vez mais eficiência de produção para maior rentabilidade. Apenas elevar a produção do rebanho não garante o retorno econômico. O farelo de soja e o milho são os principais ingredientes dos suplementos concentrados devido às suas qualidades nutricionais, sendo amplamente conhecido o potencial destes alimentos sobre a produção de leite. Porém, os preços dessas *commodities* sofrem grandes variações ao longo do ano em função da oferta/demanda, e podem, em determinados períodos, deixar de serem competitivos quando comparados aos preços de outros ingredientes utilizados na nutrição animal. Entretanto, a soja e o milho, normalmente, possuem composição química de nutrientes superior a de seus produtos substitutos, o que, os tornam, preferencialmente, utilizados nas formulações das dietas.

Vacas de maior produção necessitam da suplementação concentrada para complementarem os nutrientes não fornecidos pelas forragens.

A produção de leite a pasto apresenta o inconveniente do animal ingerir o suplemento concentrado separado dos alimentos com maior teor de fibra (volumoso). Isto porque, comumente, os ingredientes dos suplementos possuem degradação ruminal mais rápida que a fibra do pasto e o fornecimento destes ocorre geralmente após as ordenhas, para maior facilidade do manejo. Mesmo que fracionada, e em função da quantidade fornecida, a suplementação concentrada pode representar elevada ingestão de carboidratos e proteínas rapidamente degradáveis no rúmen, implicando em eventuais distúrbios digestivos/metabólicos para o animal, caso haja acúmulo de amônia e ácidos orgânicos, pela insuficiente utilização/remoção do rúmen (Pereira & Armentano, 2000). Além disso, o fornecimento de quantidades elevadas de concentrados ricos em carboidratos não estruturais pode provocar queda no teor de gordura do leite, acidose, depressão na degradabilidade da fibra, acidose e redução do consumo de MS. A inclusão de lípides insolúveis na dieta pode evitar estes distúrbios (Van Soest, 1994).

A soja tostada pode ajudar neste equilíbrio ao diminuir a degradação ruminal da proteína e liberar o óleo lentamente, minimizando os efeitos negativos sobre os microrganismos do rúmen (Dhiman et al., 1997). Além disso, o aporte desses nutrientes pode aumentar a digestibilidade total da dieta e, conseqüentemente, o consumo de MS, com reflexos positivos sobre a produção animal.

O processamento térmico da soja também apresenta a vantagem de eliminar fatores antinutricionais, que diminuem a digestibilidade dos nutrientes (Silva et al., 2002).

A proteína do grão de soja cru é altamente degradável no rúmen, o que pode oferecer desvantagens em determinadas situações, principalmente em produções intensivas de leite em sistemas de pastagens, onde as constantes adubações elevam os teores de nitrogênio solúvel (nitrogênio não proteico) nos pastos. Santos et al. (1998) compararam vários tipos de fontes proteicas para vacas em lactação e relataram que a soja processada termicamente, comparada a outros ingredientes, representou a melhor fonte vegetal de proteína não degradável no rúmen (PNDR). Segundo os autores, esta fonte foi a que mais se aproximou do perfil de aminoácidos da proteína microbiana, apesar de sua deficiência em metionina.

Portanto, o estudo da suplementação com grão de soja tostada sobre a ingestão e desempenho de vacas em lactação sob pastejo em forrageiras de clima tropical é necessário, haja visto o potencial de substituir o farelo de soja e agregar valor ao leite, pela mudança da composição do seu teor de gordura.

2 - OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar a inclusão de quantidades crescentes de grão de soja tostado no concentrado de vacas em lactação sob pastejo em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu sobre o consumo de pasto, metabólitos sanguíneos, produção e composição do leite.

3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A ingestão de matéria seca (MS) é o principal fator responsável pelo desempenho animal (Bargo et al., 2003). Efeito positivo da suplementação concentrada sobre o consumo de MS é conhecido em trabalhos da literatura nacional (Lopes, 2008; Reis & Souza, 2007). Porém, quando acrescida de lipídeos, a suplementação concentrada possui diferentes efeitos sobre o consumo de MS, sendo o mais comum a sua redução (Allen, 2000).

O efeito negativo da suplementação de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) no consumo de MS de bovinos é relatado na literatura (Jenkins & MacGuire, 2006). Geralmente, este efeito é atribuído à aderência do óleo na fibra e à alteração da permeabilidade da membrana de algumas bactérias celulolíticas (Nagaraja et al., 1997). Segundo Allen (2000), efeitos metabólicos, através da absorção dos AGPI no intestino,

também contribuem para a regulação do consumo. Os lipídeos incluídos na dieta podem aumentar a eficiência energética e promover o efeito quimiostático sobre a ingestão de MS, ou seja, quando o requerimento energético é atendido, os animais ajustam o consumo, para manter constante a ingestão de energia (Krehbiel et al., 2006).

Segundo Souza et al. (2009), a eficiência metabólica é aumentada com a maior ingestão e absorção de AGPI, pois como estes são de cadeia longa, encontram-se prontos para a imediata incorporação nos tecidos. Ressalta-se que o custo energético da síntese de gordura a partir do acetato e butirato é maior devido ao gasto de glicose para manter a reação (Souza et al., 2009).

Portanto, o perfil de ácidos graxos (AG) da fonte de óleo utilizada na suplementação, associado a características da dieta (relação volumoso:concentrado, degradabilidade ruminal, teor de fibra insolúvel em detergente neutro - FDN, dentre outras) modulará o efeito sobre o consumo de MS.

Estas observações podem explicar a grande variação na amplitude da redução do consumo encontrada em revisão feita por Bargo et al. (2003) em dietas para vacas leiteiras baseadas em forrageiras de clima temperado. Segundo os autores, a suplementação de lipídeos foi em torno de 300 g/dia e, em grande parte dos trabalhos revisados utilizou-se “gordura protegida” da degradação ruminal, e estas possuem quantidades expressivas de AG saturados. Talvez estas possuam menor efeito no controle metabólico do consumo, por apresentarem absorção intestinal mais lenta que os AGPI (Allen, 2000).

Trabalhos com estimativa do consumo de vacas sob pastejo com suplementação de concentrado contendo lipídeos são escassos. Segundo Schroeder et al. (2004) e Lopes (2008), a estimativa do consumo de MS em sistema de pasto é mais difícil, mais cara e de menor acurácia em relação à determinada em sistemas confinados com dieta total (TMR) e, por isso, poucos trabalhos foram encontrados por esses autores em suas revisões. Lopes (2008) também citou a reduzida disponibilidade de trabalhos estimando o consumo de vacas sob pastejo em forrageiras tropicais. Entretanto, o autor relatou que o uso de indicadores como o óxido crômico, tem estimado relativamente bem o consumo de animais sob pastejo, apesar das dificuldades com a estimativa da produção fecal, devido, principalmente, à grande variação animal na excreção desse indicador nas fezes. Porém, o óxido crômico é o indicador mais empregado na estimativa de consumo de animais em pasto, por ser de fácil determinação laboratorial e baixo custo (Lopes, 2008).

O emprego do óleo e do grão de soja cru ou processado em dietas de vacas em lactação foi mais comum de ser encontrado naquelas à base de silagens de milho. A grande maioria destes relatou redução de consumo com a inclusão desses ingredientes, quando utilizados em detrimento do farelo de soja (Eifert et al., 2005; Eifert et al., 2006; Vargas, et al., 2002; Jordan et al., 2006; Oliveira et al., 2007; Silva et al., 2007; e Souza et al., 2009). Já outros, não relataram efeito dos grãos dessa oleaginosa sobre o consumo (Deresz et al. 1996; McNiven et al., 2004; Guidi et al., 2007; Messana, 2009). De maneira geral, estes resultados são atribuídos ao efeito do óleo ou ausência deste sobre a degradação da fibra e/ou sobre a saciedade promovida pelos AGPI.

Os dados sobre produção e composição do leite também demonstraram grande variação nos resultados com suplementação lipídica, haja visto o número de fatores afetando a produção, além do consumo. Segundo Palmquist (1994), a fase de lactação, a fonte e a quantidade fornecida de lipídios, além do direcionamento da energia para outras funções fisiológicas, têm contribuído para a divergência das respostas encontradas. O uso da soja grão “in natura” ou com diferentes processamentos físico-térmicos apresentaram efeito tanto sobre a produção e composição, quanto em apenas um destes parâmetros ou ainda, não apresentaram efeito (Bernard et al., 1990; Knapp et al., 1991; Faldet et al., 1991; Deresz et al., 1996; Pires et al., 1996; Santos et al., 2001; Vargas et al., 2002, Eifert et al., 2005; Ipharraguerre et al., 2005; Oliveira et al., 2007 e Barnabé et al., 2007).

Portanto, trabalhos com vacas em lactação em pastejo de manejo contínuo de forrageiras de clima tropical retratam bem a realidade encontrada no país. Além disso, avaliar o efeito do incremento de lipídeos por meio do grão de soja tostado (GST) quanto aos parâmetros ingestivos e a produção e composição do leite são necessários para fornecer informações tanto para a literatura científica quanto para os produtores rurais.

4 - MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Campo Experimental de Coronel Pacheco (Coronel Pacheco/MG), de propriedade da Embrapa Gado de Leite, no período de 06 de fevereiro a 10 de abril de 2009. Utilizaram-se dezesseis vacas Holandês x Gir, multíparas, no terço inicial de lactação (58 ± 20 dias), com produção de leite de 20 ± 5 kg/dia, e 506 ± 51 kg de peso vivo.

Foi utilizado delineamento com quatro Quadrados Latinos (QL) 4 x 4 contemporâneos, sendo que cada fase do QL foi constituída por 10 dias de período de adaptação à dieta; e cinco para coletas de amostras.

Os tratamentos experimentais consistiram na inclusão de quantidades crescentes do grão de soja tostado (GST) na suplementação concentrada de vacas em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

T0 - suplementação concentrada sem GST (controle);

T1,3 - suplementação concentrada contendo 1,3 kg de GST (base matéria natural –MN);

T2,6 - suplementação concentrada contendo 2,6 kg de GST (base MN);

T3,9 - suplementação concentrada contendo 3,9 kg de GST (base MN);

O GST (*TotalSoy*[®]) utilizado no experimento foi adquirido da Rações Total (Três Corações, MG). A tostagem seguiu os seguintes procedimentos: análise inicial para determinação da umidade do GS e passagem por peneira para retirada das impurezas. No tostador equipado com sistema de ventilação forçada, o GS passou pela esteira de tostagem com temperatura de 145 a 149 °C, por período de 30 a 45 segundos. Após a tostagem, o GST foi transportado para o tanque metálico onde permaneceu por 35 min a temperatura entre 100 a 140 °C, para homegeinização do calor e evitar combustão espontânea do produto (*steeping*). Do tanque o GST passou pela rosca de resfriamento, onde sofreu choque térmico por meio da água potável aspergida, com objetivo de reduzir e homegeinizar a temperatura. Após este procedimento o GST seguiu para o silo de armazenamento, e só foi retirado, após período de 12 h de aeração, para que atingisse a temperatura ambiente.

As vacas receberam 6 kg/dia dos suplementos concentrados, em cochos eletrônicos individuais do tipo *calan-gate* (American Calan Inc., Northewwod, NH, EUA), fracionados em duas vezes ao dia após as ordenhas da manhã e da tarde, que iniciavam às 06:00 e 14:00 h, respectivamente. O fornecimento do GST integral na fase pré-experimental provocou a saída de grande quantidade do mesmo nas fezes das vacas. Por isso, durante todo período experimental, o GST foi quebrado em moinho com peneira com abertura de malha de 10 mm, antes de ser misturado ao concentrado.

Todas as vacas foram mantidas na mesma pastagem de 9,5 ha de *B. brizantha* com disponibilidade mínima de 153 kg de matéria seca por vaca por dia, sob manejo com taxa de lotação contínua.

A composição química dos suplementos concentrados e da dieta total estão demonstradas na Tabela 1. As dietas foram formuladas por meio do *software* Spartan (Michigan State University) e visaram ser isoproteicas e isoenergéticas. Na formulação

considerou-se o consumo individual em 15,1 e 9 kg/dia de matéria seca total e matéria seca de pasto, respectivamente, para produção de leite de 20 kg/vaca/dia.

Tabela 1- Ingredientes (kg), composição química (% da matéria seca -MS) dos suplementos concentrados e da dieta total com inclusão de quantidades crescentes de grão de soja tostado (GST)¹

Ingredientes (kg de MN) ²	T 0	T 1,3	T 2,6	T 3,9
GST	0	1,3	2,6	3,9
Farelo de soja	2,7	1,9	1,2	0,5
Milho moído	1,6	1,3	1,0	0,7
Polpa cítrica	1,6	1,3	1,0	0,7
Sup. mineral-vitamínico	0,2	0,2	0,2	0,2
Composição química dos concentrados (%MS) ²				
PB	28,5	30,4	30,9	32,9
FDN	16,8	17,4	21,0	20,1
FDA	9,1	9,3	11,1	10,8
EE	2,6	8,7	11,3	16,5
CNF	43,1	35,4	28,5	22,9
Cinzas	9,0	8,1	8,3	7,6
Composição química da dieta total (%MS)				
PB	15,0	14,9	15,1	15,0
FDN	47,7	50,4	53,3	56,0
FDA	27,5	29,3	31,2	33,0
EE	2,20	3,60	4,90	6,20
NDT	66,2	67,0	67,7	68,8
ELL (Mcal/kg)	1,40	1,40	1,50	1,50

¹Tratamentos: T0; T1,3; T2,6 e T3,9 - suplementos concentrados sem inclusão de GST e com inclusão de 1,3; 2,6 e 3,9 kg de GST (base matéria natural); ²MN = matéria natural; MS = matéria seca; PB = proteína bruta; FDN = fibra insolúvel em detergente neutro; FDA = fibra insolúvel em detergente ácido; EE = extrato etéreo; CNF = carboidrato não-fibroso; NDT = nutrientes digestíveis totais; ELL = energia líquida de lactação.

No primeiro dia do período de adaptação de cada fase do QL, foi coletada forragem selecionada na pastagem, utilizando-se uma vaca em lactação fistulada no esôfago, dotada de bolsa para coleta de extrusas. A bolsa utilizada foi confeccionada em lona impermeável, com furos para drenagem da saliva. A vaca foi previamente adaptada ao pastejo por, aproximadamente, sete dias e, não foi submetida a jejum previamente à coleta (Carvalho Filho, 1981). A duração da coleta foi de, aproximadamente, 40 min, que se iniciava às 8:00 h, logo após a ordenha.

As amostras, imediatamente após o término das coletas diárias, foram acondicionadas em sacos plásticos para o transporte até o laboratório, e armazenadas (-10°C). Posteriormente, foram descongeladas, compostas de acordo com a fase experimental do QL, pré-secadas (55°C, 72 h), moídas (1 mm) e analisadas (Silva & Queiroz, 2002) quanto aos teores de matéria seca (MS) a 105°C, de proteína bruta (PB), de extrato

etéreo (EE), de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e em detergente ácido (FDA). Estas amostras de extrusa foram utilizadas para o ensaio de digestibilidade *in vitro* de MS (DIVMS), conforme método descrito por Tilley e Terry (1963).

No primeiro dia de cada fase experimental do QL, foram coletadas amostras dos suplementos concentrados e dos seus ingredientes (polpa cítrica, fubá de milho e farelo de soja) e congeladas (-10°C). Posteriormente, foram descongeladas e compostas de acordo com a fase experimental do QL, pré-secadas (55°C, 72h), moídas (1mm) e analisadas quanto à composição química (MS, PB, EE, FDN, FDA e cinzas), conforme métodos descritos por Silva & Queiroz (2002).

Para determinação da DIVMS foram obtidas no primeiro dia de coleta de cada fase dos QL, amostras de líquido ruminal das quatro vacas fistuladas do experimento do Capítulo 1. Essas amostras foram coadas com gaze e, imediatamente, acondicionadas em garrafas térmicas de capacidade de 1 L. Portanto, foi utilizado o líquido ruminal de vacas submetidas aos quatro tratamentos para o ensaio DIVMS das extrusas e dos quatro suplementos concentrados experimentais, determinadas na Incubadora *in vitro* modelo TE-150 (Tecnal Equipamentos para Laboratório, Piracicaba, SP), utilizando *filter bags* F57 (Ankom).

A amostragem do pasto para determinação da massa de forragem na pastagem foi feita no primeiro dia de cada período experimental, com auxílio de um quadrado (0,5 x 0,5 m) e cortes realizados a 5 cm do solo, lançados em 30 áreas escolhidas ao acaso dentro do piquete (adaptado de McMeniman, 1997). Após a pesagem das 30 amostras, separou-se o material senescente (“matéria morta”) e o material verde restante foi separado em folhas e caule. Todas as partes fracionadas foram pesadas para posterior caracterização da relação folha:caule, e pré-secadas (55°C, 72h), sendo, posteriormente, moídas (1 mm) e analisadas quanto à composição química, conforme descrito para as extrusas.

O consumo individual diário de matéria seca (MS) foi estimado em cada fase do QL nas 16 vacas, a partir da fórmula: Consumo (kg de MS) = Produção fecal x 100/(100 - DIVMS). Os valores de DIVMS foram obtidos das amostras de extrusas, conforme descrito anteriormente. Para a estimação da produção fecal total foi utilizado o óxido crômico (Cr₂O₃) como indicador externo, fornecido na quantidade de 10 g/vaca/dia, divididos em duas partes iguais e embalados em “papel-toalha”, administrado às vacas do 4° ao 15° dia de cada fase experimental, sempre após cada ordenha. O fornecimento foi feito por via oral com o cuidado de colocar as “balas de Cr₂O₃” o mais próximo possível da garganta, observando-se sempre se havia a ingestão completa. Desta

maneira foi observado menor tempo de contenção e menor estresse dos animais, quando comparado ao modo de fornecimento por meio do “lança bolos”. Os sete primeiros dias da administração foram destinados à obtenção do equilíbrio (*steady-state*), sendo que nos últimos cinco dias, foram feitas coletas de fezes, diretamente na ampola retal das vacas, visando à determinação da concentração de cromo. As coletas de fezes foram realizadas duas vezes ao dia, após os horários das ordenhas, e transformadas em compostas por vaca/dia.

Após as coletas diárias, as amostras de fezes foram acondicionadas em sacos plásticos previamente identificados e congeladas (-10°C). Posteriormente, foram pré-secadas (55°C, 72 h), moídas (1 mm) e compostas com base no peso seco, por animal e por fase do QL. As amostras foram analisadas quanto ao teor de cromo, por espectrofotometria de absorção atômica (Williams et al., 1962) após digestão nitroperclórica (Kimura & Miller, 1952). A produção fecal relativa ao consumo de pasto foi calculada por diferença entre a total e aquela referente ao consumo dos suplementos.

Para determinação do consumo de ácidos graxos (AG), amostras de forragens e dos concentrados foram analisadas quanto ao perfil de AG, sendo realizada no Laboratório de Óleos e Gorduras Vegetais da Embrapa Agroindústria de Alimentos (Rio de Janeiro, RJ). Para tanto, depois de coletadas e congeladas (-10°C), foram liofilizadas e moídas (1 mm). A fração lipídica foi extraída de acordo com a Official...(1990) e os AG metilados segundo Hartman & Lago (1973). O perfil de AG foi determinado por cromatografia gasosa em cromatógrafo modelo 6890N (Agilent Technologies Inc., EUA) equipado com coluna CP-SIL 88 FAME 100 m x 0,25 mm x 0,2 µm (Varian Inc., EUA) e detector de ionização de chama com condições de operação descritas por Cruz-Hernandez et al. (2007), e *software* Agilent ChemStation (Agilent Technologies Inc., EUA). Os AG foram identificados, comparando o tempo de retenção dos AG das amostras com os observados em padrões comerciais da Sigma-Aldrich Co. (Supelco, Bellefonte, EUA).

As produções individuais de leite foram registradas do 11° ao 15° dia em cada fase dos QLs, por meio do medidor automático acoplado à ordenhadeira mecânica (De Laval®).

Amostras de leite individuais, em duplicata, referentes a cinco ordenhas consecutivas (11° ao 15° dia de cada fase experimental), foram coletadas, diretamente dos coletores acoplados a cada conjunto de ordenha. Após a homogeneização do leite ordenhado, foram amostrados em frascos contendo bronopol® como conservante, para posterior determinação dos teores de proteína, gordura, lactose e extrato seco total, segundo procedimentos da Official... (1990). Padronizou-se a coleta em dois terços da ordenha

da manhã e um terço na ordenha da tarde. Do 11° ao 13° dia de cada fase do QL, foram coletadas frascos contendo bronopol[®], amostras para a análise do nitrogênio ureico do leite (NUL). As análises de composição e da contagem de células somáticas do leite foram realizadas em equipamento Bentley[®] 2000 (Bentley Instruments Inc., Chaska, Minnesota, EUA) no Laboratório de Qualidade de Leite da Embrapa Gado de leite (Juiz de Fora, MG) e a análise do NUL foi realizada na Clínica do Leite da ESALQ/USP (Piracicaba, SP).

No 15° dia de cada fase experimental, imediatamente após a ordenha, foi realizada coleta de amostra de sangue de cada vaca, por meio de punção dos vasos coccígenos. As amostras foram então, armazenadas em tubos contendo heparina (Thompson & Christie, 1991), e centrifugadas em 3.200 x g por 15 min. O plasma obtido foi pipetado, transferido para tubos e armazenado a -10°C (Wonsil et al., 1994), até a realização das análises das concentrações de glicose utilizando-se o analisador automático “Biochemistry Analyser Model 2700 Select” (YSI Inc., Yellow Springs, Ohio, EUA). Uma segunda amostra foi coletada da mesma maneira anterior, porém utilizaram-se tubos sem anti-coagulantes, para análise de NEFA por meio de *kit* comercial (NEFA C, Wako Pure Chemicals Industries Ltda., Osaka, Japão).

Os resultados foram analisados pelo procedimento GLM do SAS (2002), tendo como fontes de variação: QL, animal dentro de QL, período, tratamento (quantidades de inclusão de GST no concentrado) e interação QL x tratamento. Utilizou-se o LSMEANS (P<0,05) para a geração das médias das variáveis e respectivos erros-padrão. Os efeitos das quantidades de inclusão de GST no concentrado foram avaliados por meio de análises de regressão linear e quadrática pelo PROC REG do SAS (2002), sendo considerados significativos quando P<0,05.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A massa de forragem durante todo o período experimental sempre foi superior a 4.823 kg de MS/ha, ou seja, maior que os 2.000 kg de MS/ha considerados por Minson (1990) como a quantidade mínima necessária para não interferir no consumo e, conseqüentemente, no desempenho dos animais. A relação folha:caule:materia morta média foi de 32:51:17, refletindo o manejo de pastejo contínuo da pastagem. Considerando apenas a relação folha:caule, a média foi de 35:65. A taxa de lotação

média do piquete foi de 2,4 UA/ha e não variou durante os 60 dias do período experimental.

A composição química média da forragem colhida manualmente e por meio da extrusa esofágica está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição química (%MS) da extrusa esofágica e da folha, caule, e matéria morta colhidas manualmente¹ do pasto de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu

Amostras	MS	Cinzas	PB	EE	FDN	FDA	Lig
Extrusa	12,5	8,9	10,8	1,2	69,7	35,0	5,0
Folha	30,4	9,9	7,1	2,2	67,0	32,9	4,3
Caule	29,0	6,8	2,7	0,9	79,0	45,6	5,2
M. morta	52,7	10,3	2,5	2,0	77,8	41,7	6,9

¹Forragem cortada à 5 cm do solo; MS = matéria seca; PB = proteína bruta, EE = extrato etéreo; FDN = fibra insolúvel em detergente neutro; FDA = fibra insolúvel em detergente ácido; Lig = lignina.

Os valores apresentados na Tabela 2 indicam a melhor seleção de nutrientes feita pelas vacas em pastejo, principalmente em relação aos teores de PB. Foi observado que o material era constituído, em sua maior parte, de folhas verdes, porém também apresentava pequenas hastes e folhas secas, o que pode explicar o valor de lignina apresentado. Lopes et al. (2011) relataram que a forragem selecionada em piquete de capim-braquiária, obtida da amostra de extrusa coletada de vaca em lactação fistulada no esôfago apresentou 12,2% de MS, 10,2% de PB (% da MS) e 66,8% de FDN (% da MS), valores similares aos obtidos no presente experimento.

Os valores de DIVMS da extrusa e dos quatro concentrados experimentais estão apresentados na Tabela 3. Houve redução linear ($P < 0,05$) na DIVMS do concentrado, porém não houve para a extrusa ($P > 0,05$), com o aumento da participação do GST no suplemento concentrado. O valor médio encontrado para a DIVMS da extrusa foi de 66,6%. Este valor está dentro da média do capim *Brachiaria brizantha* cv. Marandu relatada por Valadares Filho et al. (2010). Esses autores relataram média de DIVMS de 68,9 e 65,5% para amostras de capim com cortes de 16 a 30 e 31 a 45 dias, respectivamente.

O efeito encontrado para a DIVMS dos concentrados pode ser atribuído ao processamento do grão de soja e ao incremento do GST nos concentrados. De acordo com o incremento de GST houve redução dos teores de milho e polpa, ricos em carboidratos digestíveis no rúmen (amido e pectina), além da menor digestibilidade da fração proteica no rúmen. A redução linear da DIVMS do suplemento concentrado de 0 para 3,9 kg/vaca/dia de GST foi de 11,3%.

Tabela 3 - Digestibilidades *in vitro* da matéria seca (%) da extrusa de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e dos quatro concentrados experimentais, utilizando líquido ruminal obtido de quatro vacas em cada fase do Quadrado Latino, em função da quantidade crescente (0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia) de inclusão de grão de soja tostado (GST) no concentrado

Alimento	Concentrados				EPM ¹	Equação Linear ³
	T0	T1,3	T2,6	T3,9		
Concentrado, %	95,4	94,1	90,7	84,6	1,195	$\hat{y} = 96,57 - 2,75X$ ($r^2 = 0,75$)
Extrusa, %	65,7	67,5	68,4	64,8	1,796	ns ²

¹ EPM = Erro-padrão da média ; ² ns = não-significativo (P>0,05);

Os valores referentes ao consumo são demonstrados na Tabela 4. Houve efeito linear (P<0,05) da quantidade crescente de GST sobre o consumo de MS e de FDN total, de MS de forragem (kg/vaca/dia) e também sobre o consumo de MS e de FDN total e de forragem em relação ao peso vivo (%PV). Não houve interação do QL x tratamento para nenhuma das variáveis (P>0,05).

Os valores estimados pela formulação das dietas para o consumo de MS total e do pasto foram próximos dos observados (14 e 9 kg de MS total e de pasto, respectivamente). De certa forma, isto indicou que o uso de óxido crômico como indicador, estimou bem a produção fecal e, conseqüentemente, o consumo de pasto.

O consumo diário de EE pelas vacas aumentou (P<0,05) com a inclusão crescente de GST no concentrado. Já o consumo diário de PB apresentou valores semelhantes (P>0,05) entre as vacas dos quatro tratamentos experimentais (Tabela 4). Na Tabela 1 notou-se que o teor de EE aumentou concomitante à inclusão de GST no concentrado, por este ser a principal fonte de lipídios (22 % da MS comparado a 2; 6 e 2% da MS para o farelo de soja, milho moído e polpa cítrica, respectivamente) utilizada no experimento. Diferentemente, os teores de PB do GST (38% da MS) foram inferiores aos do farelo de soja (51% da MS), mas superiores aos do milho moído (9% da MS) e polpa cítrica (6,5% da MS). Portanto, a substituição crescente destes pelo GST, manteve as concentrações de PB similares entre os concentrados.

Em relação ao consumo de carboidratos não fibrosos (CNF) houve redução linear (P<0,05) com o aumento da suplementação de GST no concentrado. Esta resposta reflete a inclusão decrescente do milho moído e polpa cítrica para as dietas T0; T1,3; T2,6 e T3,9, já que esses ingredientes foram a principal fonte de amido e pectina, respectivamente, utilizadas nos suplementos concentrados.

Tabela 4 – Consumos (kg/vaca/dia ou % do peso vivo - %PV) de matéria seca (MS), fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), proteína bruta (PB), carboidratos não fibrosos (CNF), extrato etéreo (EE) e ácidos graxos α -linolênico (C18:3 *cis*-9 *cis*-12 *cis*-15), linoleico (C18:2 *cis*-9 *cis*-12) e oleico (C18:1 *cis*-9) de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado

Consumo	Concentrados				EPM ¹	Equação Linear
	T0	T1,3	T2,6	T3,9		
MS						
Total, kg	15,4	15,0	14,6	12,8	0,238	$\hat{y} = 15,83 - 0,64X$ ($r^2 = 0,09$)
Total, %PV	3,02	2,98	2,83	2,50	0,144	$\hat{y} = 3,11 - 0,14X$ ($r^2 = 0,09$)
Pasto, kg	10,4	9,8	9,5	7,6	0,734	$\hat{y} = 10,75 - 0,66X$ ($r^2 = 0,10$)
Pasto, %PV	2,03	1,96	1,84	1,49	0,144	$\hat{y} = 2,11 - 0,14X$ ($r^2 = 0,10$)
Concentrado, kg	5,06	5,14	5,09	5,16	0,005	$\hat{y} = 5,08 + 0,02X$ ($r^2 = 0,20$)
Concentrado, % PV	0,99	1,01	0,99	1,01	0,004	ns
FDN						
Total, kg	8,08	7,76	7,71	6,37	0,511	$\hat{y} = 8,34 - 0,40X$ ($r^2 = 0,07$)
Total, %PV	1,58	1,55	1,49	1,24	0,100	$\hat{y} = 1,64 - 0,85X$ ($r^2 = 0,08$)
Pasto, kg	7,23	6,86	6,64	5,34	0,511	$\hat{y} = 7,49 - 0,46X$ ($r^2 = 0,10$)
Pasto, %PV	1,41	1,37	1,28	1,04	0,100	$\hat{y} = 1,47 - 0,09X$ ($r^2 = 0,10$)
PB, g						
PB, g	2.563	2.628	2.601	2.526	79,23	ns
CNF, g						
CNF, g	3.159	2.746	2.348	1.902	68,88	$\hat{y} = 3.176 - 321$ ($r^2 = 0,77$)
EE, g						
EE, g	256,1	565,1	690,1	943,3	9,035	$\hat{y} = 287 + 168$ ($r^2 = 0,96$)
Ácido α-linolênico, g						
Ácido α -linolênico, g	57,5	78,3	86,5	96,0	3,740	$\hat{y} = 61,7 + 9,47$ ($r^2 = 0,48$)
Ácido linoleico, g						
Ácido linoleico, g	82,0	253,6	323,7	471,1	1,809	$\hat{y} = 97,7 + 95,2$ ($r^2 = 0,98$)
Ácido oleico, g						
Ácido oleico, g	38,3	103,9	130,6	189,9	0,460	$\hat{y} = 43,4 + 37,1$ ($r^2 = 0,98$)
Peso vivo, kg						
Peso vivo, kg	514	512	518	517	1,731	ns

¹EPM = Erro-padrão da média; ²ns = não-significativo (P>0,05).

Os consumos dos ácidos graxos α -linolênico (C18:3 *cis*-9 *cis*-12 *cis*-15), linoleico (C18:2 *cis*-9 *cis*-12) e oleico (C18:1 *cis*-9) aumentaram linearmente (P<0,05) com a inclusão crescente de GST no concentrado. Estes resultados também refletem o perfil de AG das dietas experimentais. O principal AG do pasto e do GST foi o α -linolênico (42% do AG totais) e linoleico (53% dos AG totais), respectivamente. A redução linear do consumo de pasto foi compensada pelo aumento dos teores dos ácidos α -linolênico, linoleico e oleico com o incremento de GST no concentrado.

O aumento linear (P<0,05) do consumo de concentrado pode ser explicado pelas diferenças do teor de MS entre os suplementos, pois todas as vacas recebiam diariamente 6 kg de matéria natural dos concentrados. Os teores de MS foram de 84,4; 85,8; 84,8 e 86,1% para os suplementos T0; T1,3; T2,6 e T3,9, respectivamente.

Entretanto, ressalta-se que esta significância estatística não possui significado biológico, pois a diferença entre o consumo mínimo e máximo de concentrado foi de apenas 100 g, respectivamente, de 5,06 e 5,16 kg de MS/dia.

O efeito da suplementação de óleo vegetal causando a depressão no consumo é bem relatado na literatura. Segundo Allen (2000), os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) apresentam maior efeito de redução no consumo que os ácidos graxos saturados (AGS) devido à maior inibição na atividade dos microrganismos do rúmen. Da mesma forma, a proteção dos AGPI da biohidrogenação ruminal pode também afetar o consumo, devido ao maior acesso destes ao duodeno, com absorção e metabolização mais rápida no fígado e maior estímulo de liberação de colecistoquinina e a equivalentes redutores quando comparados aos AGS (Allen, 2000). Este efeito pode ter acontecido no presente estudo devido à tostagem do GS, pois o T3,9 propiciou redução no consumo de MS e FDN, em 11,6 e 14,6%, respectivamente, quando comparado ao consumo das vacas recebendo o T0.

A literatura reportou efeito do grão de soja “*in natura*” ou tostado na redução do consumo de MS (4 a 27%) em experimentos com diferentes inclusões do grão (13 a 27% na MS) tanto na dieta de bovinos como de outras espécies (Aldrich et al., 1995; Vargas, et al., 2002; Jordan et al., 2006; Oliveira et al., 2007; Silva et al., 2007; e Souza et al., 2009). Porém, outros trabalhos não relataram efeito da inclusão do GST ou “*in natura*” (11 a 40% de MS) sobre o consumo de MS (Knapp et al., 1991; Deresz et al., 1996; McNiven et al., 2004; Guidi et al., 2007; Messana, 2009). Exceto no trabalho de Silva et al. (2007), em todos os demais, silagens de milho ou de sorgo foram a base das dietas, demonstrando a relevância do presente estudo em fornecer informações sobre a suplementação lipídica por meio do GST para vacas em lactação manejadas em pastagem de clima tropical. No presente estudo, os animais do tratamento com maior inclusão de GST, consumiram 3,9 kg/dia de GST, o que correspondeu a 30,4% da MS e 7,2% de EE na dieta, porém apresentaram redução linear no consumo.

Nos trabalhos consultados, as formulações das dietas visaram atender maior densidade energética e efeito dos lipídeos sobre o desempenho e/ou ambiente ruminal e notou-se que a redução do consumo não esteve ligada apenas à fonte (grão ou óleo livre), ao processamento térmico/físico ou à quantidade incluída na dieta. Os autores relataram pouco efeito do óleo diretamente sobre microrganismos do rúmen, atribuindo a redução do consumo ao efeito de saciedade metabólica provocado pelos AGPI e, provavelmente, este mesmo efeito pode ter reduzido o consumo no presente estudo.

A baixa palatabilidade do grão de soja foi atribuída como causa do menor consumo de cabras quando comparado ao óleo de soja (Silva et al., 2007). Segundo os autores, alguns animais rejeitaram dietas contendo o grão. Este efeito também foi suposto por Felton & Kerley (2004) em novilhos recebendo dietas contendo 8, 16 e 24% de MS de grão de soja, nos primeiros 29 dias de suplementação. Porém, após este período o consumo foi semelhante entre os tratamentos. Entretanto, no presente estudo, este efeito não foi observado nas vacas em nenhum momento do período experimental, independente do tratamento. As vacas só eram encaminhadas novamente ao pasto, após a conferência da ingestão individual total de todo concentrado, o que, de modo geral, acontecia de modo bastante rápido.

O consumo quando expresso em %PV, apresentou variações de 3,0 a 2,5; 2,0 a 1,5 e de 1,6 a 1,2% para MS total, MS do pasto e FDN total, respectivamente (Tabela 5). Reis & Souza (2007) revisaram dados de 20 experimentos que estimaram o consumo de MS de vacas sob pastejo de forrageiras de clima tropical. Apesar da grande variação referente à categoria animal, espécie de gramínea e quantidade de suplementação concentrada, os autores encontraram média de consumo de $2,35 \pm 0,61\%PV$ para MS e de $1,67 \pm 0,48\%PV$ para FDN. Revisão de literatura semelhante, porém abrangendo maior número de dados foi realizada por Lopes (2008). Quando considerado apenas os dados referentes ao fornecimento de 6 kg/vaca/dia de suplemento concentrado, foi verificada variação de 2,61 a 3,53%PV e de 1,65 a 2,57%PV, respectivamente, para o consumo de MS total e de MS do pasto. Nesses estudos, as vacas apresentaram produção de leite entre 15,3 e 19,6 kg/dia, sob pastejo de diferentes espécies de gramíneas tropicais. Portanto, mesmo com o efeito da suplementação de GST, os consumos deste experimento foram semelhantes aos observados na literatura. Ressalta-se que mesmo com o alto teor de FDN da forragem (69,7%), a suplementação concentrada correspondeu à, aproximadamente, 40% da dieta em todos os tratamentos, o que pode ter contribuído para os valores encontrados.

Não houve efeito ($P>0,05$) sobre a concentração de glicose, porém a concentração de ácidos graxos não esterificados (NEFA) aumentou ($P=0,04$) com a suplementação crescente de GST (Tabela 5). Não foi verificada a interação QL x tratamento ($P>0,05$) para nenhuma das variáveis.

A ausência de efeito na concentração plasmática de glicose pode indicar que os tratamentos não alteraram a concentração do seu principal precursor, o propionato. O propionato pode contribuir com até 60% da produção de glicose no ruminante

(Kozloski, 2009), sendo que 60 a 70% desta na glândula mamária são requeridos para a produção de lactose (Fonseca & Santos, 2000).

Tabela 5 - Concentração de glicose e de ácidos graxos não-esterificados (NEFA) no plasma de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 de grão de soja tostado (GST) no concentrado

Alimento	Concentrados				EPM ¹	Equação de Regressão
	T0	T1,3	T2,6	T3,9		
Glicose, mg/dL	56,0	55,6	56,8	56,8	1,21	ns ²
NEFA, mmol/L	0,22	0,24	0,23	0,28	0,01	$\hat{y} = 0,217 - 0,015X$ ($r^2 = 0,05$)

¹EPM = Erro-padrão da média; ²ns = não-significativo (P>0,05).

Neste trabalho, o valor médio para a concentração de glicose foi de 56,3 mg/dL e é semelhante ao relatado em outros trabalhos que não apresentaram efeito da suplementação lipídica na concentração de glicose: 62,3; 54,3; 53,3 e 57 mg/dL para Pires et al. (1996); Dhiman et al. (1997); Costa (2008) e Carriquiry et al. (2009), respectivamente. Segundo Costa (2008), a influência dos lipídeos suplementados na dieta sobre a concentração de glicose pode estar relacionada com a alteração da produção de propionato ruminal (redução do suprimento de amido) ou no aporte de substrato energético para o fígado durante o balanço energético negativo.

A concentração de NEFA plasmático aumentou linearmente (P=0,04) com a adição de GST no concentrado. Provavelmente, a tostagem do grão propiciou menor liberação do óleo no rúmen e, conseqüentemente, maior passagem e absorção de AGPI no intestino. O aumento da concentração de NEFA foi explicado por Grummer & Carroll (1991), por meio da maior partição dos AG hidrolizados para glândula mamária comparada aos tecidos, após a suplementação lipídica. Porém, trataram-se de animais no pós-parto imediato. DePeters et al. (1989) e Ruegseguer & Schultz (1985) observaram resultados semelhantes ao do presente estudo com a suplementação de lipídios nas dietas. Não houve diferença na concentração de glicose, mas houve incremento dos teores de NEFA. No caso do primeiro trabalho, os autores trabalharam com grupos de vacas que encontravam-se no início e no terço médio da lactação.

Não houve efeito (P>0,10) da quantidade de GST nos suplementos concentrados sobre a produção e composição do leite, exceto para o teor (P=0,10) e produção (P=0,08) de gordura (Tabela 6). Não houve interação entre QL x Tratamento (P>0,05) para nenhuma das variáveis.

Tabela 6 - Produção e composição diária do leite de vacas Holandês x Gir, em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado

Parâmetros	Concentrados				EPM ¹	Equação de Regressão
	T0	T1,3	T2,6	T3,9		
Produção de leite, kg	19,9	20,4	20,2	20,4	0,259	ns ²
PLC3,5%, kg ³	20,0	21,1	21,2	21,3	0,387	ns
PLC4,0%, kg ⁴	18,5	18,5	19,6	19,7	0,357	ns
Gordura, %	3,56	3,74	3,84	3,81	0,063	$\hat{y} = 3,60 + 0,07X$ ($r^2 = 0,02$)
Gordura, g	700,1	753,4	764,6	768,4	18,24	$\hat{y} = 714 + 16,6X$ ($r^2 = 0,03$)
Proteína, %	2,90	2,87	2,88	2,86	0,016	ns
Proteína, g	575,9	584,0	579,7	580,8	8,761	ns
Lactose, %	4,34	4,34	4,32	4,34	0,019	ns
Lactose, g	865,3	886,1	872,3	884,4	12,09	ns
Sólidos totais, %	11,7	11,9	12,0	12,0	0,075	ns
Sólidos totais, g	2.332	2.420	2.410	2.430	38,40	ns
ESD, % ⁵	8,19	8,18	8,16	8,16	0,032	ns
ESD, kg	1.631	1.666	1.646	1.662	22,94	ns
Teor de NUL, mg/dL ⁶	17,5	17,6	18,7	18,7	0,319	ns
Escore Linear CCS ⁷	4,24	4,71	4,67	4,38	0,181	ns

¹EPM = Erro-padrão da média; ²ns = não-significativo ($P > 0,10$); ³Produção de leite corrigida para 3,5% de gordura, segundo equação: $(0,432 + 0,1625 * \% \text{gordura}) * \text{leite}(\text{kg})$ (SKLAN et al., 1992); ⁴Produção de leite corrigida para 4,0% de gordura, segundo equação: $0,4 * \text{leite}(\text{kg}) + 15 * (\% \text{gordura} / 100) * \text{leite}(\text{kg})$ (NRC, 2001); ⁵ESD = Extrato seco desengordurado; ⁶NUL = Nitrogênio uréico do leite; ⁷NUL = teor de nitrogênio uréico do leite

A variação no teor e produção de gordura foi de 8 e 9%, respectivamente, do tratamento sem inclusão de GST para o tratamento com 3,9 kg/vaca/dia de GST. Knapp et al. (1991) encontraram aumento do teor e produção de gordura de 3,1 e 3,5%, respectivamente, no leite de vacas que receberam GST na dieta comparado ao daquelas que não receberam. Aumentos semelhantes ao do presente estudo foram relatados por Faldet & Satter (1991) e Ipharraguerre et al. (2005), respectivamente, de 12 e 9% para a produção de gordura do leite de vacas que também receberam a inclusão de GST na dieta comparado ao das vacas que não receberam.

Os trabalhos com suplementação contendo AGPI relataram efeito negativo desses lípides sobre a concentração de gordura do leite, o que comumente é atribuído ao impacto negativo destes sobre a digestibilidade da fibra ou ao aumento da produção de determinados AG *trans* no rúmen que comprometem a síntese *de novo* de AG na glândula mamária (Bauman & Grinari, 2003). Entretanto, no presente estudo não houve

tais efeitos, pois foi observado aumento do teor de gordura do leite. Provavelmente, a tostagem do grão protegeu o óleo de modo que não houve efeito deletério sobre a microbiota e fermentação do rúmen e, conseqüentemente, sobre o teor de gordura do leite.

A gordura do leite é originada tanto de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) da circulação sanguínea (~50%) quanto da síntese *de novo* na glândula mamária, a partir principalmente do acetato (Bauman & Griinari, 2003).

No experimento do Capítulo 1 foi demonstrado que a concentração do acetato foi igual para todos os tratamentos. Entretanto, a suplementação crescente com GST elevou os teores de NEFA na corrente sanguínea e, provavelmente, aumentou a quantidade de AG absorvidos no intestino, o que pode ter propiciado o maior aporte destes para a glândula mamária. Normalmente, o NEFA circulante é relacionado apenas com a mobilização tecidual de AG e pode corresponder a 40% do total, enquanto que 60% pode ter origem na hidrólise de AG circulantes por meio das lipoproteínas lipase (Phetick & Dusnshea, 1993 citados por Hocquette & Bauchart, 1999) em animais com balanço energético positivo. Esta relação é alterada com o estágio fisiológico do animal, aumentando a participação da mobilização tecidual proporcionalmente com a elevação do déficit energético (Grummer & Carroll, 1991). As vacas deste experimento não se encontravam no período de balanço energético negativo (< 21 dias pós-parto), e, provavelmente, os teores plasmáticos de NEFA tenham sido influenciados pela maior absorção de lípidos e conversão de lipoproteínas.

Os dados da produção de leite demonstraram que as diferenças no consumo não limitaram o aporte de nutrientes para a glândula mamária. A média de produção neste estudo foi de 20,2 kg/vaca/dia e a eficiência alimentar (produção de leite/consumo de MS) aumentou com a adição crescente de GST. O T3,9 propiciou eficiência alimentar 13,9% maior que o T0 e a maior densidade energética das dietas contendo GST pode ter compensado a menor ingestão de MS. Corroborando com isto, não houve alteração da produção de lactose, que é o principal componente osmótico do leite, associado à secreção de água e ao volume de leite. Além disso, a lactose é sintetizada a partir da glicose, que por sua vez origina-se do propionato (Capítulo 1), e a concentração destes, foram semelhantes entre os tratamentos.

A ausência de efeito na produção de leite pela inclusão de GST na dieta comparado à soja não processada e/ou ao farelo de soja foi relatada na literatura. A inclusão de GST (grão ou moído) nestes trabalhos variou de 4,5 a 23% da MS (2,2 a 7% de EE) em dietas à base de silagem de milho (Bernard, 1990; Pires et al., 1996; Santos et al., 2001;

Ipharraguerre et al., 2005; Bobe et al., 2007; Barnabé et al., 2007). Não foi apresentada uma explicação única para a ausência de efeito na produção, porém alguns autores sugeriram que vacas em balanço energético positivo recebendo dietas equilibradas em nutrientes, sofrem pouca influência da suplementação lipídica na dieta. Já outros citaram que grãos processados quando fornecidos em dietas com volumoso à base de silagem de milho, não trazem ganhos adicionais à produção de leite. Em trabalhos com diferentes fontes de lipídios (girassol, canola, linhaça) também não foram relatados efeitos sobre a produção do leite (Beauchemin et al., 2009; Carriquiry et al., 2009; Rego et al., 2009).

Entretanto, estes estudos foram com dietas à base de silagem de milho. Apenas o estudo de Vilela et al. (2003) utilizou o GST no suplemento concentrado em vacas sob pastejo. Os autores encontraram aumento da produção de leite (19,8 para 22,2 kg/dia), PLC3,5% (19,8 para 23,6 kg/dia) e teor de gordura do leite (3,4 para 4,2%) em vacas sob pastejo de *Cynodon dactylon* (coast-cross) suplementado com 9 kg/vaca/dia de concentrado contendo 3,1 kg de GST comparado às que receberam 3,1 kg de farelo de soja no concentrado.

No caso da proteína do leite, provavelmente o aumento da quantidade de PNDR com a suplementação crescente de GST não alterou o perfil de aminoácidos essenciais (AAE) da proteína metabolizável (PM). A PM é a proteína digerida após o rúmen com absorção de aminoácidos no intestino, sendo composta além da proteína microbiana (Pmicr) também pela PNDR e pela proteína endógena (NRC, 2001), e o seu valor é determinado pelo perfil de AAE. Provavelmente, a contribuição da PNDR no total da PM aumentasse com a suplementação crescente de GST nos suplementos concentrados. Porém, não foi determinado se houve diferença na relação Pmicr:PNDR entre os tratamentos, mas caso isto tenha ocorrido, não foi o suficiente para alterar a qualidade final da PM. Além disso, ausência de efeito entre os tratamentos demonstraram que, provavelmente, também não houve diferença entre os mesmos na disponibilidade de energia/nitrogênio no rúmen.

A soja é a fonte de proteína vegetal de melhor perfil de AAE (Santos et al., 1998), apesar do desequilíbrio de metionina, quando comparada à proteína microbiana. Portanto, neste estudo, provavelmente os teores crescentes de PNDR não limitaram a síntese de proteína microbiana no rúmen. Além disso, os valores tanto de N-NH₃ amoniacal encontrados nas vacas do Capítulo 1, quanto do nitrogênio ureico do leite (NUL) não diferiram entre os tratamentos (Tabela 7), indicando que o metabolismo e

aproveitamento do nitrogênio foram semelhantes para todas as quantidades de inclusão de GST.

O valor do NUL reflete o metabolismo proteico do ruminante e está em equilíbrio com os teores de nitrogênio do sangue. A média do NUL foi de 18,1 mg/dL. Altos valores de NUL podem indicar excesso de proteína e/ou menor eficiência do uso do nitrogênio (Broderick & Clayton, 1997), porém não existe um valor padrão, mas sim médias de valores encontrados em rebanhos e revisões de meta-análises. As médias de 14,4; 14,8 e 15,5mg/dL foram encontradas respectivamente por Hojman et al. (2004); Broderick & Clayton (1997) e Johnson & Young (2003). Os valores variaram de 3 a 28 mg/dL, sendo que aqueles de até 19mg/dL foram considerados limite para que não haja interferência na reprodução (Buttler et al., 1996).

Não houve efeito ($P>0,05$) da adição de GST no concentrado sobre o escore linear da contagem de células somáticas (CCS) do leite, que apresentaram média de 4,5. Este valor corresponde à variação de CCS de 141 a 282 mil/mL de leite (Philpot e Nickerson, 1991) e, encontrou-se abaixo do valor máximo de 400 mil/mL, proposto pelo MAPA/IN-51 (2002).

6 – CONCLUSÃO

A suplementação crescente de grão de soja tostado, nas condições do presente estudo, reduziu o consumo, mas não alterou a produção de leite. O teor e a produção de gordura do leite, bem como as concentrações plasmáticas de NEFA foram elevados de acordo com o maior aporte de lipídios no concentrado. Este resultado pode apresentar implicações financeiras para o produtor de leite, haja vista que grande parte dos laticínios brasileiros têm desenvolvido programas de bonificação de pagamento por composição do leite.

7 - REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALDRICH, C.G.; MERCHEN, N.R.; NELSON, D.R. et al. The effects of roasting temperature applied to whole soybeans on site of digestion by steers. II. Protein and amino acid digestion. *Journal of Animal Science*, v.73, p.2131-2140, 1985.

ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.83, p.1598-1624, 2000.

- BARGO, F.; MULLER, L.D.; KLVER, E.S. et al. Invited review: Production and Digestion of Supplemented dairy cows on pasture. *Journal of Dairy Science*, v.86, p.1-42, 2003.
- BARNABÉ, E.C.; SANTOS, F.A.P.; BITTAR, C.M.M. Fontes protéicas e energéticas com diferentes degradabilidades ruminais para vacas em lactação. *Acta Scientiarum Animal Science*, v.29, p.209-216, 2007.
- BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A. et al. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. Proceedings of the American Society of Animal Science, 1999
- BAUMAN, D.E.; GRINARI, J.M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition*, v.23, p.203-227, 2003.
- BEAUCHEMIN, K.A.; MCGINN, S.M.; BENCHAAAR, C. et al. Crushed sunflower, flax, or canola seeds in lactating dairy cow diets: Effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. *Journal of Dairy Science*, v.92, p.2118-2127, 2009.
- BERNARD, J.K. Effect of raw or roasted whole soybean on digestibility of dietary nutrients and Milk production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.73, p.3231-3236, 1990.
- BOBE, G.; ZIMMERMAN, S.; HAMMOND, E.G. Butter composition and texture from cows with different Milk fatty acid compositions fed fish oil or roasted soybeans. *Journal of Dairy Science*, v.90, p.2596-2603, 2007.
- BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M. K. A Statical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science*, v. 80, n.11, p. 2964-2971, 1997.
- BUTLER, W.R.; CALAMAN, J.J.; BEAM, S. W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *Journal of Animal Science*, v. 74,n.4, p. 858-865, 1996.
- CARRIQUIRY, M.; WEBER, W.J. DAHLEN, C.R. Fatty acid composition of milk from multiparous Holstein cows treated with bovine somatotropin and fed n-3 fatty acids in early lactation. *Journal of Dairy Science*, v.92, p.4865-4875, 2009.
- CARVALHO FILHO, O.M. de. *Uso e manejo de bovinos fistulados no esôfago em ensaios de pastejo*. Petrolina, PE: EMBRAPA/CPATSA, 1981. 24p. (EMBRAPA/CPATSA. Documentos, 8).
- COSTA, M.G. Rações com diferentes fontes de gordura para vacas em lactação. 2008. 119f. Tese de Doutorado em zootecnia – UFV, Viçosa, Minas Gerais.
- CRUZ-HERNANDEZ, C.; KRAMER, J.K.G.; KENNELLY, J.J. et al. Evaluating the conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in Milk fat of dairy cows fed increasing amounts of sunflower oil and a Constant level of fish oil. *Journal of Dairy Science*, v.90, p. 3786-3801, 2007.

- DERESZ, F.; FERNANDES, A.M.; MATOS, L.L et al. Utilização de soja grão crua na alimentação de vacas leiteiras de alta produção. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.25, p.113-124, 1996.
- DePETERS, E.J., TAYLOR, S.J.; BALDWIN, R.L. Effect of dietary fat in isocaloric rations on the nitrogen content of milk from Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.72, p.2949-2957, 1989.
- DHIMAN, T.R.; KOREVAAR, A.C.; SATTER, L.D. Particle size of roasted soybeans and the effect on milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 80, p. 1722-1727, 1997.
- FALDET, M.A.; SATTER, L.D. Feeding heat-treated full fat soybeans to cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*, v.74, 3047-3054, 1991.
- FELTON, E.E.D.; KERLEY, M.S. Performance and carcass quality of steers fed whole raw soybeans at increasing. *Journal of Animal Science*, v. 82, p.725-732, 2004.
- FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. Qualidade do leite e controle de mastite, 1. ed. São Paulo:Lemos Editorial. 2000. 175p.
- GRUMMER, R.R.; CARROLL, D.J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *Journal of Animal Science*, v.68, p.3838-3852, 1991.
- GUIDI, M.T.; SANTOS, F.A.P.; BITTAR, C.M.M. Efeito de fontes e teores de proteína sobre digestibilidade de nutrientes e desempenho de vacas em lactação. *Acta Scientiarum of Animal Science*, v.29, p.325-331, 2007.
- HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory Practice*, v.22, n.8, p.175-176, 1973.
- HOCQUETTE, J.F.; BAUCHART, D. Intestinal absorption, blood transport and hepatic and muscle metabolism of fatty acids in preruminant and ruminant animals. *Reproduction Nutrition Development*, v.39, p.27-48, 1999.
- HOJMAN, K.; KROLL, O.; ADIN, G. et al. Relationships between milk urea and production, nutrition, and fertility traits in Israeli dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v. 87, n.4, 1001-1011, 2004.
- IPHARRAGUERRE, R.; CLARK, J.H.; FREEMAN, D.E. Rumen fermentation and intestinal supply of Nutrients in dairy cows fed rumen-protected soy products. *Journal of Dairy Science*, v.88, p.2879-2892, 2005.
- JENKINS, T.C.; McGUIRE, M.A. Major advances in nutrition: impact on milk composition. *Journal of Dairy Science*, v.89. p.1302-1310, 2006.
- JOHNSON, R.G.; YOUNG, A.J. The association between milk urea nitrogen and DHI production variables in western commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v. 86, n.9, p. 3008-3015, 2003.

JORDAN, E.; KENNY, D.; HAWKINS, M. Effect of refined soy or whole soybeans on intake, methane output, and performance of young bulls. *Journal of Animal Science*, v.84, p.2418-2425, 2006.

KNAPP, D.M.; GRUMMER, R.R.; DENTINE, M.R. The response of lactating dairy cows to increasing levels of whole roasted soybeans. *Journal of Dairy Science*, v.74, p.2563-2572, 1991.

KIMURA, F.; MILLER, V.L. Chromic oxide measurement . Improved determination of chromic oxide in cow feed and faeces. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v.111, p.633-635, 1952.

KOZLOSKI, G.V. *Bioquímica dos ruminantes*, 2 ed. Santa Maria: UFSM. 2009, 214p.

KREHBIEL, C.R. CRANSTON, J.J. MCCURDY, M.P. An upper limit for caloric density of finishing diets. *Journal of Animal Science*, v.84, p.34-49, 2006.

LOPES, F.C.F. Consumo de forrageiras tropicais por vacas em lactação sob pastejo em sistemas de intensivos de produção de leite. *Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia*. v.57, p.67-117, 2008.

LOPES, F.C.F.; BARROS, P.A.V.; BRUSCHI, J.H.; et al. Perfil de ácidos graxos no leite de vacas Holandês em pastagens tropicais suplementadas com dois níveis de concentrado. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.63, p. 518-521, 2011. Comunicação.

McMENIMAN, N.P. Methods of estimating intake of grazing animals. In: REUNIÃO ANUAL SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. *Anais...* Juiz de Fora: SBZ, 1997, p.131-168.

McNIVEN, M.A.; DUYNISVELD, J.; CHARMLEY, E. et al. Processing of soybean affects meat fatty acid composition and lipid peroxidation in beef cattle. *Animal Feed Science and Technology*, v.116, p.175-184, 2004.

MESSANA, J.D. Teores de lipídios em dietas de novilhos nelore sobre parâmetros ruminais, desempenho e características de carcaça. 2009.100f. Tese de Doutorado em zootecnia – UNESP, Jaboticabal, São Paulo.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, BRASIL. Instrução Normativa nº 51. *Regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite*. Brasília, 2002. 24p.

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

NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J. et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds.). *The rumen microbial ecosystem* 2.ed. Great Britain: Blackie Academic & Professional, 1997. P. 524-632.

NMC- NATIONAL MASTITE COUNCIL, *Current concepts of bovine mastitis*. 4.ed. Madison, Wisconsin: National Mastite Council, 1996, 64p.

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

OFFICIAL Methods of analysis. 15 Ed., Arlington, VA: AOAC, 1990. 1141p.

OLIVEIRA, R.L.; ASSUNÇÃO, D.M.P.; FREITAS, M.A.A. Efeito do fornecimento de diferentes fontes de lipídios na dieta sobre o consumo, a digestibilidade e o N-uréico plasmático de novilhos bubalinos em confinamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, p.733-738, 2007.

PALMQUIST, D.L. The role of dietary fats in efficiency of ruminants. Conference: regulating lipids metabolism to increase productive efficiency. *Journal of Nutrition*, v.124, p. 1377-1382, 1994.

PEREIRA, M.N.; ARMENTANO, L.E. Partial replacement of forage with nonforage fiber sources in lactating cow diets. II. Digestion and rumen function. *Journal of Dairy Science*, v.83, p.2876-2875, 2000.

PHILPOT, W.N.; NICKERSON, S.C. *Mastitis: counter attack*. A strategy to combat to mastitis. Naperville, Illinois:Badson Brothers Co., 1991, 150p.

PIRES, A.V.; EASTRIDGE, M.L. FIRKINS, J.L. Roasted soybeans, blood meal, and tallow as sources of fat and ruminally undegradable protein in the diets of lactating cows. *Journal of Dairy Science*, v.79, p-1603-1610, 1996.

REGO, O.A.; ALVES, S.P.; ANTUNES, L.M.S. Rumen biohidrogenation-derived fatty acids in Milk fat from grazing dairy cows supplemented with rapessed, sunflower, or linseed oils. *Journal of Dairy Science*, v.92, p.4530-4540, 2009.

REIS, R.B.; SOUZA, B.M.; Suplementação de vacas leiteiras de vacas em pastagem manejadas intensivamente. In: Simpósio sobre Bovinocultura leiteira, 6., 2007. Piracicaba. *Anais...*Piracicaba: Esalq/USP, p.151-182, 2007.

RUEGSEGGER, G.; 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.3272-3279, 1985.

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

SANTOS, F.L.; LANA, R.P.; SILVA, M.T.C. Produção de composição do leite de vacas submetidas a dietas contendo diferentes níveis e formas de suplementação de lipídios. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, p.1376-1380, 2001.

SCHROEDER, G.F.; GAGLIOSTRO, G.A.; BARGO, F. Effects of fat supplementation on Milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. *Livestock Production Science*, v.86, p.1-18, 2004.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. *Análise de alimentos.: métodos químicos e biológicos*. 3 ed. Viçosa: UFV, 2002, 235p.

SILVA, L.D.F.; RAMOS, B.M.O.; RIBEIRO, E.L.A. et al. Degradabilidade ruminal *in situ* da matéria seca e proteína bruta de duas variedades de grão de soja com diferentes

teores de inibidor de tripsina, em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, p.1251-1257, 2002.

SILVA, M.M.C.; RODRIGUES, M.T.; RODRIGUES, C.A.F. et al. 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.

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

SOUZA, A.R.D.L.; MEDEIROS, S.R.; MORAIS, M.G. et al. Dieta com alto teor de gordura e desempenho de tourinhos de grupos genéticos diferentes em confinamento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.44, p. 746-753, 2009.

STATISTICAL analyses systems – SAS: User's guide: Statistics, Version 5.ed. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2002.

THOMPSON, G.E.; CHRISTIE, W.W. Extration of plasma triacylglycerols by the mammary gland of the lactating cow. *Journal of Dairy Research*, v.58, p.251-255, 1991.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, v.18, p.104-111, 1963.

VALADARES FILHO, S.C., MACHADO, P.A.S.; CHIZZOTTI, M.L. et al. *Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos*, 3.ed. UFV, DZOO, 2010, 502 p.

VARGAS, L.H.; LANA, R.P.; JHAM, G.N. et al. Adição de Lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, p.522-529, 2002 (suplemento).

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

VILELA, D.; MATOS, L.L.; ALVIM, M.J. Utilização de soja integral tostada na dieta de vacas em lactação em pastagem de Coastcross (*Cynodon dactylon*, L.Pers.). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, p. 1243-1249, 2003.

WILLIAMS, C.H.; DAVID, D.J.; ILSMAA, O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *Journal of Agricultural Science*, v.59, p.381-385, 1962.

WONSIL, B.J.; HERBEIN, J.H.; WATKINS, B.A. Dietary and ruminally derived trans-18:1 fatty acids alter bovine milk lipids. *Journal of Nutrition*, v.124, p.556-565, 1994.

CAPÍTULO 3

PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE DE VACAS HOLANDÊS X GIR SOB PASTEJO DE *BRACHIARIA BRIZANTHA* CV. MARANDU SUPLEMENTADA COM GRÃO DE SOJA TOSTADO

Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito da quantidade crescente de grão de soja tostado (GST) em substituição ao farelo de soja sobre o perfil de ácidos graxos da gordura do leite de vacas Holandês x Gir em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. O experimento foi realizado em delineamento com quatro quadrados latinos 4 x 4 e as vacas receberam 6 kg/vaca/dia de concentrados contendo 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg de GST (base matéria natural), que consistiram os tratamentos experimentais. Houve redução linear ($P < 0,05$) dos ácidos graxos de cadeia curta e média do leite em função da suplementação crescente de GST. Os teores dos ácidos rumênico (CLA C18:2 *cis*-9 *trans*-11) e vaccênico (C18:1 *trans*-11) não diferiram ($P > 0,05$) entre as dietas experimentais. A concentração dos ácidos oleico (C18:1 *cis*-9), linoleico (C18:2 *cis*-9 *cis*-12) e α -linolênico (C18:3 *cis*-9 *cis*-12 *cis*-15) aumentaram linearmente ($P < 0,05$) com o aumento da inclusão de GST no concentrado das dietas. A inclusão de GST para vacas em pasto não aumentou os teores do ácido rumênico, porém reduziu ($P < 0,05$) as concentrações dos ácidos graxos saturados de cadeia média, o que pode propiciar melhor valor nutritivo do leite.

Palavras-chave: ácido linoleico conjugado, ácido rumênico, ácido vaccênico, tostagem

Abstracts

The objective was to evaluate the effect of increasing levels of roasted soybean seeds (RSB) replacing soybean meal on fatty acids profile of the milk of crossbred Holstein x Gir cows grazing *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. A 4 x 4 Latin square design, with cows receiving concentrate containing 0, 22, 43 or 65 % RSB was used that consisted of the test treatments. There was linear decreasing ($P < 0.05$) of the short and medium chain milk fatty acids concentration in the treatments with 0 to 65 % de RSB in the diet. The levels of rumenic (*cis*-9 *trans*-11 C18:2) and trans-vaccenic (*trans*-11C18:1) fatty acids in the milk were not different ($P > 0,05$) among treatments. The oleic (*cis*-9 C18:1),

linoleic (*cis*-9, *cis*-12 C18:2) and α -linolenic (*cis*-9 *cis*-12 *cis*-15 C18:3) acids increased linearly ($P < 0,05$) with increasing of RSB in the diet. Although the use of RSB in grazing cows did not increase the rumenic CLA levels in the milk compared to soybean meal, it reduced the short-chain saturated fatty acids, which is an improvement of the nutritional value the milk.

Key-words: conjugated linoleic acid, rumênico acid, vaccênico acid, roasted

1 – INTRODUÇÃO

O leite é considerado alimento completo devido à sua ótima qualidade nutricional, principalmente da proteína, cálcio e vitamina D (Palmquist, 2010).

Entretanto, existe receio por parte da população, em função da alta proporção de ácidos graxos saturados (AGS) na composição de sua gordura. A alta ingestão de AGS tem sido tradicionalmente associada com o aumento do risco de desencadear doenças cardiovasculares (Lindmark-Maonsson et al., 2003). Porém, deve ser ressaltado que os AGS não possuem os mesmos efeitos biológicos, sendo que os negativos à saúde humana tem sido atribuídos a alguns AGS de cadeia média (Warensjo et al., 2010).

Neste contexto, os resultados experimentais revelam que o ácido rumênico (C18:2 *cis*-9 *trans*-11), um isômero do ácido linoleico conjugado (CLA), como potente agente anticarcinogênico e aparece como forte esperança para a reavaliação dos produtos dos ruminantes, pois o leite e a carne destes animais são as mais ricas fontes naturais desse ácido graxo (Bessa, 2000; Elgersma et al., 2006).

Recentemente, diversas pesquisas foram realizadas no intuito de alterar a composição da gordura do leite, tornando-a mais adequada ao consumo humano (Gama et al., 2008; Lopes et al., 2009). Neste sentido, com foco na redução do risco de doenças cardiovasculares tem-se buscado a diminuição dos teores dos ácidos graxos saturados de cadeia média, como láurico (C12:0), mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0), e o aumento da concentração do ácido oleico (C18:1 *cis*-9) no leite (Dewhurst et al., 2006). Também têm-se buscado aumentar a concentração do ácido vaccênico (C18:1 *trans*-11), que é o precursor do ácido rumênico na síntese endógena da glândula mamária.

No Brasil, a maior parte da produção de leite é sob regime de pasto. Alternativas nutricionais que melhorem o valor nutricional de leite dentro destes sistemas de

produção, possuem impacto muito positivo para toda a cadeia produtiva. Para isso, utilizar ingredientes que agreguem valor ao leite pode resultar em maior retorno para o produtor, quanto em benefícios para os consumidores. A soja possui grande disponibilidade no mercado e normalmente é utilizada nas formulações de rações devido à alta qualidade de sua proteína (Santos et al., 1998). A inclusão da soja na forma de grão tostado pode aumentar o valor energético da dieta sem causar impactos negativos para o animal (Dhiman et al., 1997), além de poder aumentar os teores de ácido rumênico da gordura do leite (Dhiman et al., 2000).

Portanto, a literatura é escassa sobre a utilização de grão de soja tostado na dieta de vacas em pastagens de clima tropical, avaliando o perfil da gordura do leite, o que aumenta a importância de estudar melhor este ingrediente na dieta para vacas leiteiras.

2 – OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inclusão de quantidades crescentes de grão de soja tostado no concentrado de vacas manejadas sob pastejo em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu sobre o perfil de ácidos graxos do leite.

3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O interesse por CLA foi despertado em 1979 a partir do trabalho de Pariza e seus colaboradores, na Universidade de Wisconsin, nos EUA. Estes pesquisadores observaram fatores anticarcinogênicos em hambúrguer grelhado de carne bovina, que foram identificados como isômeros octadecadienoicos do ácido linoleico, ou seja, CLA. Desde então, têm sido objeto de grande número de estudos, representando novo e extenso campo de pesquisa dos ácidos graxos, por sua relação com a saúde humana (Cook & Pariza, 1998; Funk et al., 2006).

O termo ácido linoleico conjugado refere-se à uma mistura de isômeros geométricos (combinações de configurações: *cis-cis*, *trans-cis*, *cis-trans*, e *trans-trans*) e posicionais (duplas ligações nas posições 8 e 10; 9 e 11; 10 e 12; ou 11 e 13) do ácido linoleico (ácido C18:2 *cis*-9 *cis*-12), em que as insaturações são conjugadas, ou seja, separadas por simples ligações carbono-carbono (Bessa et al., 2000; Collomb et al., 2006).

O principal isômero do CLA presente no leite bovino é o ácido rumênico (C18:2 *cis*-9 *trans*-11) (Dewhurst et al., 2006), variando de 70 a 90% do CLA total, sendo sua predominância também na gordura corporal do ruminante (Bauman et al. 2008). O ácido rumênico também é considerado o isômero mais biologicamente ativo, haja visto ser o preferencialmente incorporado nos fosfolípídeos de membranas celulares (Bessa et al., 2000). Kramer et al. (1998) propuseram a designação de “ácido rumênico”, como nome comum para tal isômero, uma clara referência ao local onde inicialmente verificou-se a produção do mesmo, o rúmen. Na Figura 1 é apresentada a estrutura dos principais isômeros do CLA.

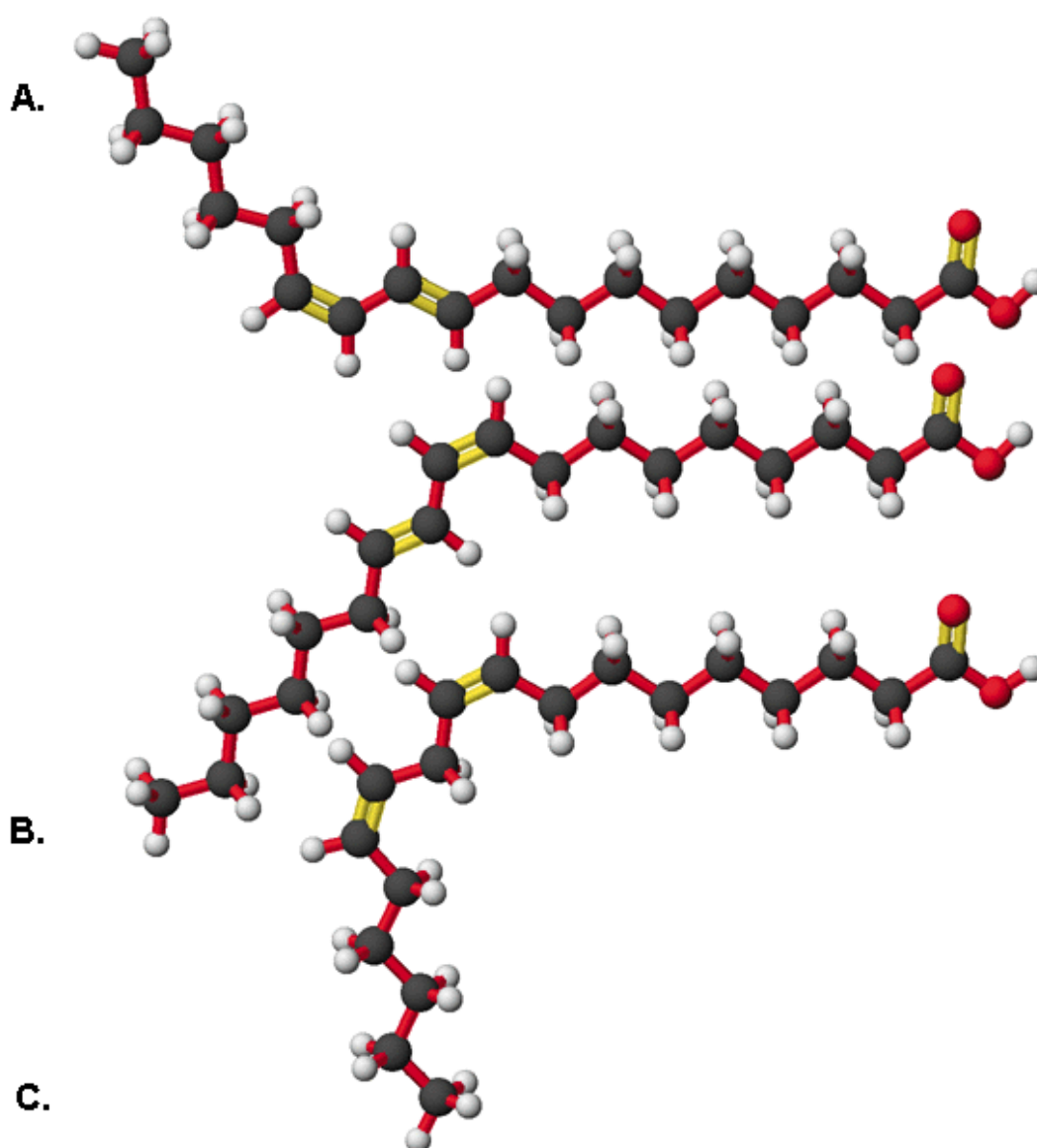


Figura 1. Estrutura química dos isômeros conjugados CLA *trans*-10 *cis*-12 (A) e CLA *cis*-9 *trans*-11 (B) e do ácido linoleico C18:2 *cis*-9 *cis*-12 (C). Adaptado de Pariza et al. (2001).

O isômero C18:2 *cis-9 trans-11* é considerado ter propriedades anticarcinogênicas, enquanto que o isômero C18:2 *trans-10 cis-12* é atribuída a redução da gordura corporal, aumento da massa corporal magra e diminuição da concentração de gordura no leite de vaca e de ovelha (Castro et al., 2009).

As principais fontes de CLA na dieta humana são os produtos lácteos derivados de ruminantes (Bessa et al., 2000; Lawson et al., 2001; Dhiman et al., 2005). Na Tabela 1 observa-se o teor de CLA total e do ácido rumênico em produtos lácteos e carne, destacando-se a manteiga.

A produção do CLA ocorre naturalmente a partir da isomerização bacteriana e/ou biohidrogenação de AG poli-insaturados no rúmen e dessaturação de AG *trans* no tecido adiposo e na glândula mamária (Schmid et al., 2006). Segundo Bauman et al. (1999), os lipídeos presentes nas forragens são, na maior parte, formados de glicolipídeos e fosfolipídeos de membrana, enquanto que nos grãos a maioria encontra-se na forma de triacilglicerol. Após a ingestão pelo ruminante, os lipídeos da dieta sofrem dois tipos de transformação no rúmen. A primeira é a hidrólise das ligações éster feita por lipases bacterianas, que deixam o radical -COOH livre. Esta reação é pré-requisito para a segunda transformação: a biohidrogenação de AG insaturados ou simplesmente a troca de ligações duplas entre carbonos por moléculas de hidrogênio, também feita por enzimas bacterianas (Bauman et al., 1999).

Tabela 1: Teores do ácido linoleico conjugado - CLA total (g/ kg de AG) e do ácido rumênico - CLA rumênico (g/100 g de CLA total) em diferentes alimentos

Alimento	CLA total	CLA rumênico
Manteiga	9,4 a 11,9	91,0
Queijo processado	3,2 a 8,9	17 a 90,0
Queijo natural	0,6 a 7,1	17 a 90,0
Iogurte	5,1 a 9,0	82,0
Carne bovina	4,4 a 6,6	59,0
Gordura do leite	2,0 a 30,0	90,0

Fonte: Adaptado de Lawson et al., (2001).

Na Tabela 2 é apresentado o perfil de ácidos graxos (AG) do leite de bovinos (Jensen, 2002). O ácido linoleico e α -linolênico correspondem a, aproximadamente, 3 e 2%, respectivamente, dos AG totais. O ácido oleico é o principal AG monoinsaturado do leite (25% dos AG totais).

Tabela 2 – Relação dos principais ácidos graxos da gordura do leite - GL (% dos ácidos graxos totais)

Ácido Graxo	Número de carbono	% média (% GL)
Butírico	4:0	2-5
Caproico	6:0	1-5
Caprílico	8:0	1-3
Cáprico	10:0	2-4
Láurico	12:0	2-5
Mirístico	14:0	8-14
Palmítico	16:0	22-35
Palmitoleico	16:1	1-3
Esteárico	18:0	9-14
Oleico	18:1	20-30
Linoleico	18:2	1-3
Linolênico	18:3	0,5-2

Fonte: Adaptado de Jensen (2002).

O isômero CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 é o primeiro intermediário produzido na biohidrogenação do ácido linoleico, feito por meio da isomerização do mesmo pela enzima *cis*-12, *trans*-11 octadecanodienoato isomerase (linoleato isomerase), produzida pela bactéria gram-negativa *Butyrivibrio fibrisolvens* e, provavelmente, por outras espécies de bactérias presentes no rúmen (Bessa et al, 2000). Parte do CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 é rapidamente reduzida a ácido *trans*-vaccênico (C18:1 *trans*-11), o qual é reduzido a ácido esteárico (C18:0), por reações de hidrogenação, tornando-se disponível para a absorção no intestino delgado. Os AG α -C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 e γ -C18:3 *cis*-6, *cis*-9, *cis*-11 também sofrem isomerização e reduções, terminando com a formação do C18:1 *trans*-11 e/ou C18:0, no caso da biohidrogenação completa (Dhiman et al., 2005). A conversão do *trans*-vaccênico (C18:1 *trans*-11) a ácido esteárico (C18:0) envolve grupo diferente de microrganismos e ocorre em ritmo mais lento. Por esta razão, C18:1 *trans*-11 normalmente acumula-se no rúmen (Bauman et al., 2008). A concentração dos isômeros dos AG C18:1 *trans* no rúmen é afetada por vários fatores, tais como a concentração de AG insaturados, pH ruminal e ionóforos. Portanto, a população de microrganismos no rúmen pode ser extremamente sensível a esses fatores (Bessa et al, 2000).

Os ácidos rumênico e o *trans*-vaccênico, muitas vezes escapam da completa biohidrogenação ruminal e são absorvidos no intestino e incorporados na gordura do leite (Dhiman et al., 2005). Apenas pequena porção do isômero rumênico escapa da biohidrogenação no rúmen. Portanto, a maior parte do ácido rumênico presente no leite vem da síntese endógena na glândula mamária por meio de uma rota metabólica

envolvendo a dessaturação do ácido trans-vaccênico pela enzima Δ^9 -dessaturase (Dhimam et al., 2005). Em revisão de literatura feita por estes autores foi relatada que a síntese endógena está entre 64 a 80% do total de ácido rumênico no leite de vacas recebendo diferentes tipos de dieta. Griinari et al. (2000) demonstraram, após o terceiro dia da infusão abomasal com 12 g/dia de trans-vaccênico, aumento de 31% na produção de ácido rumênico na gordura do leite de vacas recebendo dieta à base de feno de alfafa. A glândula mamária e o tecido adiposo apresentam substancial atividade da Δ^9 -dessaturase (Griinari et al., 2000). O sistema desaturase é um complexo multienzimático que inclui o NADH-citocromo b5 redutase, citocromo b5, acilCoA sintase e a terminal Δ^9 -dessaturase. A reação da dessaturação introduz uma dupla ligação *cis* entre os carbonos 9 e 10 dos AG (Bauman et al., 1999).

Segundo Dewhurst et al. (2006), no rúmen de vacas recebendo dietas que promovem incremento na taxa de passagem, há diminuição do tempo de biohidrogenação e, conseqüentemente, alteração no perfil de AG no leite. A mudança de dietas com o maior aporte de amido em relação à fibra altera o pH ruminal e a população de microrganismos ruminais. Conseqüentemente, há modificação na biohidrogenação ruminal e no perfil dos AG poli-insaturados da gordura do leite. Nestas condições, a isomerização do C18:2 *cis*-9, *cis*-12 é direcionada para formação do C18:2 *trans*-10, *cis*-12 enquanto que o C18:2 *cis*-9, *trans*-11 sofre redução na sua produção (Bauman et al., 1999).

3.1 - Fatores que influenciam a produção do ácido rumênico

A dieta é o principal fator que influencia a fermentação ruminal e, conseqüentemente, a produção do principal isômero do CLA, o rumênico. A influência da dieta está relacionada com a quantidade e tipo de lipídeos, além dos seus efeitos sobre o ambiente ruminal (Bauman & Griinari, 2003).

Segundo Dhiman et al. (2005), os lipídeos na dieta de ruminantes são derivados de forragens, grãos e suplementos contendo óleo. O teor de lipídios em dietas de ruminantes situa-se normalmente de 3 a 7% na matéria seca da dieta (MS).

A composição lipídica das forragens é constituída, principalmente de glicolipídios e fosfolipídios, e os principais AG são os ácidos α -linolênico (C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15) e linoleico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12). Em contraste, a composição lipídica de óleos de sementes utilizadas em alimentos concentrados é, predominantemente, de triglicerídeos contendo ácido linoleico e oleico (C18:1 *cis*-9), segundo Bauman et al. (2008).

Entre os alimentos, forragens são ricas em ácido α -linolênico, representando 48 a 56% do total de ácidos graxos. Milho e silagens de capim são ricos em ácido linoleico (41% dos AG) e α -linolênico (46% de AG), respectivamente (Dhiman et al., 2005).

Dietas contendo óleos vegetais aumentam substancialmente a quantidade do ácido rumênico no leite de vacas. Grãos com alto teor de óleo, e principalmente de ácido linoleico promovem maiores respostas (Bauman et al. 1999). Entretanto, a inclusão de lipídeos na dieta é limitada pelo efeito negativo sobre determinados microrganismos ruminais e sobre a degradação da fibra quando a inclusão ultrapassa 8% da MS da dieta (Van Soest, 1994).

Os óleos de oleaginosas têm composição bastante diferente de AG e, portanto, seria esperado ter efeitos diferentes sobre as concentrações de CLA na gordura do leite (Collomb et al., 2006). As comparações entre diferentes tipos de óleos vegetais sugerem que os ricos em ácido linoleico são mais eficazes para aumentar a concentração do ácido rumênico. No entanto, alguns trabalhos mostraram que a ingestão de ácido α -linolênico pode resultar em aumentos comparáveis no conteúdo de ácido rumênico do leite em comparação com o ácido linoleico (Collomb et al., 2006). Diferentes fontes de óleo demonstraram exercer distintos graus de enriquecimento de gordura do leite com ácido rumênico, tais como o óleo de amendoim (rico em ácido oleico) e de girassol (rico em ácido linoleico). Dhiman et al. (2000) demonstraram que o fornecimento de óleo de soja, rico em ácido linoleico, foi mais eficaz em aumentar o teor de ácido rumênico da gordura do leite do que a suplementação com óleo de linhaça na dieta.

O tipo de processamento físico-térmico empregado sobre as fontes de óleo pode alterar o perfil de AG do leite das vacas. Chouinard et al. (1997) forneceram suplemento concentrado contendo 17,5% da MS de grão de soja cru (GS), soja moída micronizada (SM), soja moída extrusada (SE) ou soja moída tostada (ST) a vacas alimentadas com dietas à base de silagem de alfafa. As vacas que receberam o tratamento GS apresentaram maior concentração dos AG saturados de cadeia curta e média e menor concentração do ácido trans-vaccênico no leite quando comparadas às que receberam os tratamentos SM, SE e ST. Entre os suplementos que continham soja processada, aquele contendo SE propiciou maior concentração de ácido trans-vaccênico e menor de linoleico que os suplementos contendo SM e ST. Os autores concluíram que apesar da moagem dos grãos ter aumentado a superfície de contato destes para a degradação bacteriana ruminal, o processo de extrusão disponibilizou ainda mais o óleo para biohidrogenação bacteriana, favorecendo maior acúmulo do trans-vaccênico na gordura do leite.

Huang et al. (2008) encontraram efeito positivo no CLA total da gordura do leite de vacas alimentadas com dietas à base de silagem de milho com a suplementação de 5% de óleo de soja (OS) ou 4% de óleo de soja mais 1% CLA sobrepassante. Os aumentos foram de 0,4 para 1,2 e 1,3% da gordura do leite, respectivamente, para os tratamentos com OS e CLA sobrepassante.

Alguns estudos relataram que vacas sob pastejo apresentaram maior concentração de CLA total no leite. Segundo Bargo et al. (2006), isto foi demonstrado quando vacas em lactação mudaram de dieta total (*TMR*) à base de forragens conservadas e grãos, para dietas à base de pasto, ou quando a proporção de pasto na dieta aumentou. Em países de clima temperado, o pasto contém de 1 a 3% de AG sendo que os maiores teores são observados na primavera e no outono. Aproximadamente, 50 a 75% destes ácidos graxos são compostos por ácido α -linolênico (Chilliard et al., 2001).

Revisão feita por Chilliard et al. (2007) reportou que o maior percentual de pasto na dieta total promoveu aumento linear nos teores dos ácidos esteárico (+2 g/100 g de gordura), trans-vaccênico (+8), isômeros do C18:3 (+1) e isômeros do CLA (+0,6) e diminuição nos teores dos ácidos C10:0 a C16:0 (-13). O aumento da participação do pasto na dieta, de 33 para 100%, propiciou aumento das concentrações dos ácidos α -linolênico e linoleico de 0,4 para 0,7 e de 0,5 a 1,6 g/100 g de AG, respectivamente.

Dhiman et al. (1995) verificaram aumento linear na concentração de ácido rumênico (8 a 23 mg/g de gordura) quando vacas consumiram pastos correspondendo a 33, 67 e 100% de suas dietas, complementadas com feno de alfafa e concentrado.

Elgersma et al. (2006) relataram que o leite de vacas manejadas sob condição de pastejo apresenta potencialmente maior relação de AG insaturados:saturados, maiores concentrações de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) e de ácido rumênico que o obtido do leite de vacas recebendo dietas baseadas em forragens conservadas. Isto é atribuído à maior concentração de ácido α -linolênico nas forragens verdes quando comparada à das conservadas, haja visto a ocorrência de perdas oxidativas de AGPI durante os processos de fenação e ensilagem (Dewhurst et al., 2006). Conforme relatado por Bargo et al. (2006) e Elgersma et al. (2006), nas plantas forrageiras o ácido α -linolênico é o principal substrato lipídico para formação do ácido vaccênico via processos de biohidrogenação no rúmen, e subsequente dessaturação para ácido rumênico na glândula mamária.

Segundo Chilliard et al. (2007), a maior parte dos experimentos comparando silagem e pasto quanto ao teor de ácido rumênico do leite de vacas, encontraram maiores valores naquelas sob pastejo. Entretanto, ressalta-se que o aumento do teor de ácido rumênico

sofre influência da inclusão de concentrado e da participação de grão ricos em óleos na dieta, pois a suplementação concentrada é comumente utilizada nos sistemas intensivos de produção de leite a pasto.

A pastagem tem maiores efeitos na diminuição dos AG saturados e aumento de AG considerados favoráveis para a saúde humana (linoleico e α -linolênico), quando comparada a “dietas de inverno”, especialmente aquelas à base de silagem de milho e concentrados. A suplementação de óleos vegetais como a linhaça, pode apresentar efeitos semelhantes aos do pasto, porém aumentam simultaneamente vários isômeros dos ácidos trans-vaccênico e dos C18:2 (conjugados ou não), especialmente quando adicionado à silagem de milho ou a dietas ricas em concentrado (Chilliard et al. 2007).

Trabalhos nacionais que contemplaram a análise do perfil de AG de forrageiras são poucos. Fernandes et al. (2007) determinaram o perfil de ácidos graxos em duas espécies forrageiras (*Brachiaria decumbens* e *B. ruziziensis*) em dois períodos do ano: estação da seca (abril) e das chuvas (novembro). Notou-se que o teor de lipídeos e dos ácidos linoleico e α -linolênico foram maiores para a *B. ruziziensis*, nos dois períodos amostrados. Segundo os autores, informações sobre os teores de AG em alimentos de clima tropical (gramíneas e concentrados) são escassas.

Lopes et al. (2009) trabalharam com vacas Holandês x Zebu alimentadas com dieta total (50:50% concentrado/volumoso, base da MS) de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum.) picado e o concentrado com teores crescentes de óleo de soja (0; 1,5; 3,0 e 4,5% da MS da dieta). Houve efeito linear crescente para as concentrações dos ácidos rumênico (1,28; 2,47; 3,74 e 4,59 g/100 g dos AG totais) e vaccênico (2,0; 4,24; 6,44 e 9,35 g/100g dos AG totais) na gordura de manteigas produzidas com leite das vacas recebendo 0; 1,5; 3,0 e 4,5% de óleo de soja na MS da dieta, respectivamente.

Lopes et al. (2011) avaliaram os teores de vaccênico e rumênico no leite de vacas sob pastejo de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés e *Panicum maximum* cv. Tanzânia recebendo duas quantidades de concentrado (3 e 6 kg/dia). O teor de extrato etéreo médio foi de 1,4; 1,7 e 1,9% da MS para o xaraés, tanzânia e concentrado, respectivamente. Não houve diferença entre os tratamentos para os teores de ácidos vaccênico (1,81 g/100 g de AG total) e rumênico (1,01 g/100 g de AG total).

Trabalhos com vacas em pasto de forrageiras de clima temperado reportaram aumento nos teores dos ácidos rumênico e vaccênico. Em revisão de literatura, Elgersma et al. (2006) relataram aumento na concentração de ácidos rumênico e vaccênico de 0,11 a 2,43 e de 0,66 a 4,62 g/100 g de AG, respectivamente, no leite de vacas com mudança

na dieta de silagem de milho no período de inverno para pastejo em diferentes gramíneas durante o verão.

Santos et al. (2001) trabalharam com vacas recebendo silagem de sorgo como volumosos e concentrados contendo farelo de soja (FS), grão de soja moído (GSM) ou óleo de soja (OS). A dieta com FS continha 3% de EE na MS enquanto que as demais apresentaram 7%. Os valores do CLA rumênico no leite foram: 0,21; 0,18 e 0,43 g/100 g de AG total para as dietas com FS, GSM e OS, respectivamente.

3.2 - Fatores que alteram a concentração de ácidos graxos em plantas forrageiras

Segundo Elgersma et al. (2006), a variação do teor de lipídeos entre as plantas ocorre por diferenças genéticas, estágio de maturidade, estação do ano e intensidade de luz. Após o corte da planta, além da respiração celular, ocorre também proteólise e a lipólise. Há perda de 30 e 40% dos AG totais e α -linolênico através da lipólise e oxidação durante o murchamento antes da ensilagem. A ensilagem realizada em condições de boa compactação e vedação tem pouco efeito nestes teores (Dewhurst e King, 1998). O processo de fenação reduziu em 50% os teores de lípidos, mas, principalmente, do ácido α -linolênico (Doreou & Ponce, 2000).

Revisão feita Dewhurst et al. (2006) reportou variação na concentração de CLA total de 0,72 a 2,64 e de 0,27 a 0,68 respectivamente, no leite de vacas recebendo dietas à base de forragem fresca ou conservada. De acordo com Elgersma et al. (2006), vacas sob pastejo apresentam maior relação entre AG insaturados:saturados, e maiores concentrações de AGPI e CLA total do que vacas recebendo dietas sob forma de silagens.

A composição média da fração lipídica das forrageiras sofre mudanças substanciais, de acordo com a estação do ano. Nas plantas, os AG encontram-se nos tecidos metabolicamente ativos, principalmente nas folhas. Como no inverno as plantas entram em senescência devido às menores luminosidade, temperatura e precipitação, ocorre diminuição das folhas ativas e, conseqüentemente, as concentrações dos AG também diminuem, principalmente os poli-insaturados como os ácidos linoleico e α -linolênico (Dewhurst et al. 2001).

O contato da silagem com o ar durante o fornecimento aos animais (Khan et al., 2009), como também o murchamento, diminuem os teores de AG poli-insaturados (Dewhurst et al., 2006). A oxidação dos AGPI durante o processo de fenação e murchamento é

responsável pelas maiores perdas de ácido α -linolênico. Esta oxidação é desencadeada pelas lipoxigenases, quando as plantas recebem alguma injúria (cortes) e transformam os poli-insaturados em aldeídos e alcoóis (processo de rancificação), segundo Dewhurst et al. (2006).

Khanal et al. (2008) também demonstram aumento do CLA total do leite de vacas com a mudança de dieta TMR (0,45 g/100 g de AG totais) para pasto de azevém (2,53 g/100 g de AG totais). Da mesma forma, a concentração do ácido trans-vaccênico aumentou de 2,89 para 7,95 g/100 g de AG totais, com a mudança da dieta TMR para o pasto. Os picos destes aumentos aconteceram após o dia 23 da mudança de dieta.

Portanto, infere-se que todo manejo (período de pastejo, adubação, irrigação etc) da pastagem que resulte em constante crescimento de folhas novas (com menor perda de material senescente), oferecerá maior quantidade de precursores de ácido rumênico para os animais sob pastejo. Diferenças genéticas entre espécies forrageiras devem existir, porém os resultados devem ser analisados com cuidado devido à influência do manejo empregado (Dewhurst et al., 2006). Segundo estes autores, o número e o intervalo de cortes durante o ano é o principal fator que influencia os teores de AG das espécies forrageiras.

3.3 - Perfil de ácidos graxos no leite e benefícios sobre a saúde humana

Alguns isômeros do CLA receberam considerável interesse durante a última década, pois foi demonstrado que promoviam benefícios à saúde, sendo comprovados efeitos anticarcinogênico, antiaterogênico e na composição da gordura corporal (Dhiman et al., 2005). Os benefícios na saúde pelo CLA são atribuídos principalmente a dois dos seus isômeros: C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (ácido rumênico) e C18:2 *trans*-10, *cis*-12 (Bhattacharya et al., 2006).

Estudos em ratos com câncer de mama alimentados com dieta à base de manteiga naturalmente enriquecida com o isômero C18:2 *cis*-9, *trans*-11 demonstraram baixa incidência de tumor mamário e menor número de tumores do que em ratos que consumiram a dieta controle (Bauman et al. 2008). Do mesmo modo, a suplementação de ácido rumênico reduziu a concentração plasmática de lipoproteínas de baixa densidade e inibiu o aparecimento da aterosclerose em coelhos e hamsters (Bessa et al, 2000).

Estudos em animais e humanos têm reportado efeito anti-diabético do C18:2 *trans*-10,*cis*-12, responsável pela diminuição dos níveis plasmáticos de glicose e a

sensibilidade à insulina aumentada (Khanal et al., 2005). Segundo Palmquist (2010), o ácido rumênico tem capacidade de induzir numerosos efeitos fisiológicos em experimentos com animais, enquanto evidências clínicas na saúde de humanos ainda são poucas, mas bastante promissoras.

Revisão feita por Park (2009) sugere efeitos positivos do ácido rumênico em humanos, como no controle do câncer de mama e coloretal, na função imune (aumento do IgA e IgM) e na absorção do cálcio (benéfico em mulheres na menopausa). Em seres humanos, também houve efeito benéfico em certos tipos de reações alérgicas ou inflamatórias devido ao ácido rumênico, com diminuição de TNF- α e IFN- γ , aumento da IL-1 β e IL-10 e das IgA e IgM e decréscimo de IgE (Collomb et al., 2006).

Basicamente, o mecanismo de ação do ácido rumênico é intracelular, induzindo mudanças na expressão gênica, através da ligação com vários tipos de genes (Palmquist, 2010) como, por exemplo, o spot 14, associado à depressão da gordura do leite de ruminantes (Baumam, 2008).

Em muitas pesquisas tem-se trabalhado com produtos sintéticos contendo quantidades iguais (50%) dos isômeros C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (ácido rumênico) e C18:2 *trans*-10, *cis*-12. O estudo de Ochoa et al. (2004) demonstrou o efeito dos dois principais isômeros do CLA no controle da proliferação celular do câncer de próstata. Porém, a atuação dos dois foi de intensidade diferente. O C18:2 *trans*-10, *cis*-12 teve ação mais efetiva na modulação da apoptose, enquanto que o ácido rumênico atuou na síntese de eicosanoides. Qualquer avaliação do efeito dos produtos lácteos para a saúde humana deve ser considerada em relação aos efeitos combinados do perfil de ácidos graxos no leite, a quantidade de ingestão de gorduras lácteas, a sua duração, e as interações entre os diferentes AG do leite, bem como entre estes e o resto da dieta (macro e micronutrientes a partir de vegetais, frutas, óleos, carnes, peixes, refrigerantes, vinho, etc) (Chilliard et al., 2007).

O teor de CLA na gordura do leite de ruminantes é baixo; ácido linoleico (ômega 6) varia de 2 a 4%, e ácido α -linolênico (ômega 3) é frequentemente menor que 1%. Entretanto, nas dietas de vacas leiteiras é alto, sendo extensamente biohidrogenado no rúmen até o ácido esteárico (C18:0), com variada quantidade do ácido *trans*-vaccênico (C18:1). A ingestão do ômega 6 nos últimos 50 anos pela população cresceu muito devido à pressão da indústria farmacêutica, principalmente as fontes de originadas do óleo de soja e do milho. Atualmente, acredita-se que esta alta ingestão causou severo desbalanço entre ômega 6/ômega 3, inclusive causando certas doenças metabólicas. A relação ômega 6/ômega 3 do leite é mais balanceada comparada a estes outros

alimentos, apesar da baixa concentração destes ácidos. Porém, a concentração destes pode ser aumentada pela manipulação dietética, principalmente, utilizando pasto de alta qualidade (Palmquist, 2010).

O isômero C18:2 *trans*-10, *cis*-12 é o responsável pela diminuição da gordura do leite de vacas (Bauman et al., 2008). Este isômero também demonstrou alterar a expressão gênica (na proteína quinase A e no AMP cíclico) de ratos com lipidose hepática, sendo importante para o controle de distúrbios metabólicos hepáticos. Revisão feita por Bhattacharya et al. (2006) demonstrou ação do C18:2 *trans*-10, *cis*-12, na redução da gordura corporal por meio da maior oxidação da gordura e inibição das enzimas lipogênicas (lipoproteínas lipases). Os autores consideraram também experimentos com homens de diferentes características, tais como obesos, magros, atletas e sedentários. A ingestão de C18:2 *trans*-10 *cis*-12 variou de 0,7 a 6,8 g/dia com resultados demonstrando desde inalteração do peso, pouca influência na composição da gordura corporal até substancial diminuição da gordura abdominal. Zhai et al. (2010) também encontraram efeitos C18:2 *trans*-10, *cis*-12 na maior queima de energia dos adipócitos, apoptose celular e oxidação de AG em culturas celular.

Na revisão feita por Park e Pariza (2007) foi observada grande variação na interação entre os dois principais isômeros de CLA. Resultados demonstraram efeitos aditivos, independentes ou antagonistas. O C18:2 *trans*-10, *cis*-12 demonstrou atuar na diminuição da gordura corporal, enquanto que o ácido rumênico atuou no incremento do desempenho de roedores, tendo efeitos independentes. Alguns estudos demonstraram que os dois possuem efeito anticancerígeno aditivo. Entretanto, foi demonstrado efeito antagonista, como o aumento da resistência à insulina pelo C18:2 *trans*-10, *cis*-12 e a correção desta pelo ácido rumênico. Portanto, as múltiplas interações entre os isômeros biologicamente ativos de CLA é que demonstrará seus efeitos.

Segundo Palmquist (2010), os requisitos para a ingestão diária de CLA ainda não são conhecidos. Baseado em modelos animais, pesquisas sugerem que a ingestão necessária para permitir respostas significativas na saúde deverá ser maior que 1 g/dia do AG. A estimativa da ingestão diária nos estudos nos Estados Unidos é de, aproximadamente, 100 mg/dia, enquanto que na Europa é de 300 a 400 mg/dia. Estas diferenças são atribuídas à maior ingestão de produtos derivados de ruminantes por parte dos europeus, principalmente de queijo. Segundo Collomb et al. (2006), a média de ingestão de CLA total estimado atualmente varia entre 95 e 440 mg/dia, e difere entre países. Os diferentes hábitos alimentares e teores de CLA dos alimentos contribuem para esta variação.

Segundo Dhiman et al. (2005), o teor de CLA total no leite e derivados varia de 0,34 a 1,07% da gordura total, e na carne e derivados varia de 0,12 a 0,68% da gordura total. Atualmente, a estimativa é que, em média, os adultos consomem de 1/3 à metade da quantidade de CLA necessária para reduzir câncer, considerando valores extrapolados de estudos com animais. Por isto, aumentar o teor de CLA do leite e da carne tem potencial para aumentar o valor nutritivo e terapêutico do leite, carne e seus respectivos derivados (Dhiman, et al. 2005). Esses autores fizeram interessante raciocínio a respeito do fornecimento de CLA por produtos lácteos. O leite contém, aproximadamente, 3,5% de gordura e 0,5% deste total é de ácido rumênico. Então, a ingestão de um copo de leite (227 mL) e um pedaço de queijo (30 g) diariamente pode fornecer 90 mg de ácido rumênico. Considerando a ingestão alimentar média diária de 600 g para pessoas adultas este valor corresponde a 0,015% da ingestão total e representa apenas 25% da dose mínima de CLA relatada reduzir incidência de câncer em ratos, que é de 0,05%, segundo Ip et al. (1994). Já Ritzenthaler et al. (2001), estimaram a ingestão média diária de CLA em 150 mg/dia, o que ainda representaria 0,025% da dieta. Por esta razão, o aumento do teor de CLA no leite e carne é bastante promissor.

Trabalhos em condições de clima tropical relataram valores de ácido rumênico maiores que os de CLA total apresentados por Dhiman et al. (2005). A concentração de 1,01 g/100 g de AG total (Lopes, et al., 2011) e de 1,28 a 4,59 g/100 g de AG total (Lopes et al., 2009) demonstraram o grande potencial que pode ser conseguido no aumento da concentração do ácido rumênico no leite de vacas nos trópicos. Além disso, os benefícios nutracêuticos deste ácido para os humanos seria conseguido com menor quantidade ingerida de leite, segundo o raciocínio proposto por Dhiman et al. (2005).

Outro aspecto que deve ser considerado é a capacidade de produção endógena do ácido rumênico pelos humanos. Estudo feito por Turpeinen et al. (2002) encontrou 19% de conversão de trans-vaccênico em rumênico. Os autores sugeriram que a quantidade de CLA disponível para os humanos é de 1,5 vezes o seu consumo, devido à produção endógena. A concentração do ácido trans-vaccênico é, aproximadamente, três vezes maior que a do ácido rumênico; e que no ser humano, da mesma forma que no ruminante, há produção de ácido rumênico por meio da dessaturação do trans-vaccênico (Van Wijelen e Colombani, 2010).

Segundo Dewhurst et al. (2006), é recomendado que a gordura total, AG saturados, ácido linoleico (ômega 6), ácido α -linolênico (ômega 3) e ácidos graxos *trans* contribuam entre 0,15 a 0,30, < 0,10; 0,05 a 0,08; 0,01 a 0,02 e < 0,01 do total da energia ingerida, respectivamente.

Portanto, avaliar estratégias de aumento do CLA no perfil do leite de vacas em sistema de pastejo é importante para gerar informações para que o produtor possa ter mais estratégias de agregar valor ao produto e o consumidor, por sua vez, ingerir um produto com componentes benéficos para sua saúde.

4 - MATERIAL E METODOS

O experimento foi realizado no Campo Experimental de Coronel Pacheco (Coronel Pacheco/MG), de propriedade da Embrapa Gado de Leite, no período de 06 de fevereiro a 10 de abril de 2009. Utilizaram-se dezesseis vacas Holandês x Gir, multíparas, no terço inicial de lactação (58 ± 20 dias), com produção de leite de 20 ± 5 kg/dia, e 506 ± 51 kg de peso vivo.

Foi utilizado o delineamento com quatro Quadrados Latinos (QL) 4×4 contemporâneos, sendo que cada fase dos QLs foi constituída por 10 dias de adaptação à dieta e cinco para coletas de amostras.

As dietas experimentais consistiram da inclusão de quantidades crescentes de grão de soja tostado (GST) na suplementação concentrada de vacas em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu manejada sob pastejo contínuo. Os tratamentos foram:

T0- suplementação concentrada sem GST;

T1,3- suplementação concentrada contendo 1,3 kg de GST (base matéria natural – MN);

T2,6- suplementação concentrada contendo 2,6 kg de GST (base MN);

T3,9- suplementação concentrada contendo 3,9 kg de GST (base MN);

Os animais receberam 6 kg/dia dos suplementos concentrados, em cochos eletrônicos individuais do tipo *calan-gate* (American Calan Inc., Northewwod, NH, EUA), fracionados em duas vezes ao dia após as ordenhas da manhã e da tarde, que iniciavam-se às 06:00 e 14:00 h, respectivamente.

O fornecimento do GST integral (sem moagem) na fase pré-experimental provocou a excreção de grande quantidade nas fezes das vacas. Por isso, durante todo o período experimental, o GST foi quebrado em moinho dotado com peneira com abertura de malha de 1 cm, antes de ser misturado ao concentrado.

O GST (*TotalSoy*[®]) utilizado no experimento foi adquirido da Rações Total (Três Corações, MG). A tostagem seguiu os seguintes procedimentos: análise inicial para determinação da umidade do GS e passagem por peneira para retirada das impurezas. No tostador equipado com sistema de ventilação forçada, o GS passou pela esteira de

tostagem com temperatura de 145 a 149°C, por período de 30 a 45 segundos. Após a tostagem, o GST foi transportado para o tanque metálico onde permaneceu por 35 min a temperatura entre 100 a 140°C, para homegeinização do calor e evitar combustão expontânea do produto (*steeping*). Do tanque o GST passou pela rosca de resfriamento, onde sofreu choque térmico por meio da água potável aspergida, com objetivo de reduzir e homegeinizar a temperatura. Após este procedimento o GST seguiu para o silo de armazenamento, e só foi retirado, após período de 12 h de aeração, para que atingisse a temperatura ambiente.

Todas as vacas foram mantidas na mesma pastagem de 9,5 ha com disponibilidade mínima de forragem de 153 kg de matéria seca por vaca por dia.

A composição química dos suplementos concentrados e da dieta total estão demonstrados na Tabela 3. As dietas foram formuladas por meio do *software* Spartan (Michigan State University) e visaram ser isoproteicas e isoenergéticas. O consumo individual foi estimado em 15,1 e 9 kg/dia de matéria seca total e matéria seca de pasto, respectivamente, para produção de leite de 20 kg/vaca/dia.

Tabela 3 - Ingredientes (kg), composição química (% da matéria seca -MS) dos suplementos concentrados e da dieta total com inclusão de quantidades crescentes de grão de soja tostado (GST)¹

Ingredientes (kg de MN) ²	T 0	T 1,3	T 2,6	T 3,9
GST	0	1,3	2,6	3,9
Farelo de soja	2,7	1,9	1,2	0,5
Milho moído	1,6	1,3	1,0	0,7
Polpa cítrica	1,6	1,3	1,0	0,7
Sup. mineral-vitamínico	0,2	0,2	0,2	0,2
Composição química dos concentrados (%MS) ²				
PB	28,5	30,4	30,9	32,9
FDN	16,8	17,4	21,0	20,1
FDA	9,1	9,3	11,1	10,8
EE	2,6	8,7	11,3	16,5
CNF	43,1	35,4	28,5	22,9
Cinzas	9,0	8,1	8,3	7,6
Composição química da dieta total (%MS)				
PB	15,0	14,9	15,1	15,0
FDN	47,7	50,4	53,3	56,0
FDA	27,5	29,3	31,2	33,0
EE	2,20	3,60	4,90	6,20
NDT	66,2	67,0	67,7	68,8
ELL (Mcal/kg)	1,40	1,40	1,50	1,50

¹Tratamentos: T0; T1,3; T2,6 e T3,9 - suplementos concentrados sem inclusão de GST e com inclusão de 1,3; 2,6 e 3,9 kg de GST (base matéria natural); ²MN = matéria natural; MS = matéria seca; PB = proteína bruta; FDN – fibra insolúvel em detergente neutro; FDA = fibra insolúvel em detergente ácido; EE = extrato etéreo; CNF = carboidrato não-fibroso; NDT = nutrientes digestíveis totais; ELL = energia líquida de lactação.

No primeiro dia do período de adaptação de cada fase do QL, foi coletada forragem selecionada na pastagem, utilizando-se uma vaca em lactação fistulada no esôfago, dotada de bolsa para coleta de extrusas. A bolsa utilizada foi confeccionada em lona impermeável, com furos para drenagem da saliva. A vaca foi previamente adaptada ao pastejo por, aproximadamente, sete dias e, não foi submetida a jejum previamente à coleta (Carvalho Filho, 1981). A duração da coleta foi de, aproximadamente, 40 min, que se iniciava às 8:00 h, logo após a ordenha.

As amostras, imediatamente após o término das coletas diárias, foram acondicionadas em sacos plásticos para o transporte até o laboratório, e armazenadas (-10°C). Posteriormente, foram descongeladas, compostas de acordo com a fase experimental do QL, pré-secadas (55°C, 72 h) e parte destas foram moídas (1 mm) e analisadas (Silva & Queiroz, 2002) quanto aos teores de matéria seca (MS) a 105°C, de proteína bruta (PB), de extrato etéreo (EE), de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e em detergente ácido (FDA).

No primeiro dia de cada fase experimental do QL, foram coletadas amostras dos suplementos concentrados e dos seus ingredientes (polpa cítrica, fubá de milho e farelo de soja) e armazenadas (-10 °C). Posteriormente, foram descongeladas, compostas de acordo com a fase experimental do QL, pré-secadas (55°C, 72h), moídas (1mm) e analisadas quanto à composição química (MS, PB, EE, FDN, FDA e cinzas), conforme métodos descritos por Silva & Queiroz (2002).

Do 11^o ao 15^o dia de cada fase do QL, por meio de dispositivo acoplado à ordenhadeira e após a homogeneização do leite de cada vaca, foram coletadas em frascos contendo bronopol[®] como conservante, amostras representativas da produção individual diária de leite (alíquotas de 2/3 e 1/3, respectivamente, nas ordenhas da manhã e da tarde). Estas amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Qualidade do Leite da Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, MG), onde foram analisadas quanto aos teores de gordura.

No 11^o dia de cada fase dos QLS também foram coletadas amostras individuais do leite das 16 vacas, em frascos sem conservantes. Estas amostras foram congeladas e armazenadas (-10°C), visando a posterior determinação do perfil de ácidos graxos no Laboratório de Cromatografia da Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, MG). A extração da gordura do leite foi realizada como descrito por Hara & Radim (1978), a metilação dos AG de acordo com Christie (1982), e o perfil de AG foi determinado por cromatografia gasosa em cromatógrafo modelo 6890N (Agilent Technologies Inc., EUA) equipado com coluna CP-SIL 88 FAME 100 m x 0,25 mm x 0,2 µm (Varian Inc.,

EUA) e detector de ionização de chama com condições de operação descritas por Cruz-Hernandez et al. (2007), e *software* Agilent ChemStation (Agilent Technologies Inc., EUA). Os AG foram identificados, comparando o tempo de retenção dos AG das amostras com os observados em padrões comerciais da Sigma-Aldrich Co. (Supelco, Bellefonte, EUA) e de acordo com artigos publicados na literatura (Roach et al., 2002; Destailats et al., 2007).

Amostras de forragens e concentrados também foram analisadas quanto ao perfil de AG, sendo realizada no Laboratório de Óleo e Gorduras Vegetais da Embrapa Agroindústria de Alimentos (Rio de Janeiro, RJ). Para tanto, depois de coletadas e congeladas (-10°C), foram liofilizadas e moídas (1mm). A fração lipídica foi extraída de acordo com a Official...(1990) e os AG metilados segundo Hartman & Lago (1973). O perfil de AG foi determinado conforme descrito anteriormente para as amostras de leite.

Os resultados do perfil de AG foram analisados pelo procedimento GLM do SAS (2002), tendo como fontes de variação: Quadrado Latino (QL), animal dentro de QL, período, tratamento (quantidades de inclusão de GST no concentrado) e interação QL x tratamento. Utilizou-se o LSMEANS (P<0,05) para a geração das médias das variáveis e respectivos erros-padrão. Os efeitos das quantidades de inclusão de GST no concentrado foram avaliados por meio de análises de regressão linear e quadrática pelo PROC REG do SAS (2002). Efeitos foram considerados significativos quando P<0,05.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfil de AG dos principais componentes das dietas utilizadas no experimento está apresentado na Tabela 4. Observa-se que a extrusa do pasto de *B. brizantha* apresentou alta concentração (42,4% dos AG totais) de ácido α -linolênico (C18:3 n-3), seguida pela concentração de ácido palmítico (C16:0), linoleico (C18:2 *cis*-9 *cis*-12), oleico (C18:1 *cis*-9) e esteárico (C18:0) de 23,5; 19,7; 4,6 e 3,0% dos AG totais, respectivamente.

Fernandes et al. (2007) analisaram o perfil de duas espécies de braquiárias (*B. decumbens* e *B. ruziziensis*) manejadas por pastejo contínuo durante o período chuvoso. As amostras foram coletadas por meio de pastejo simulado. A concentração dos ácidos α -linolênico, palmítico, linoleico, esteárico e oleico foram, respectivamente, de 31,5; 33,3; 20,1; 6,0 e 0,7% dos AG totais para a *B. decumbens* e 46,1; 25,6; 19,6; 3,7 e 0,3% dos AG totais para *B. ruziziensis*. A extrusa do pasto de *B. brizantha* apresentou perfil de AG semelhante ao da amostra de *B. ruziziensis*, exceto para o ácido oleico. Porém,

estas duas espécies apresentaram perfil de AG diferente da amostra de *B. decumbens*. A variação do perfil de AG entre as forrageiras pode ser devido a diversos fatores, tais como, a espécie, adubação, manejo, período do ano, entre outros (Elgersma et al., 2006). Além disso, a diferença da metodologia de amostragem empregada podem parcialmente explicar as concentrações encontradas no presente estudo e no trabalho de Fernandes et al. (2007).

Tabela 4 – Perfil de ácidos graxos - AG(g/100g de AG totais) da amostra de extrusa do pasto de *Brachiária brizantha*, do grão de soja tostado (GST) e dos concentrados contendo quantidades crescentes de GST (0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg)

Ácido graxo (g/100 g de AG totais)	Extrusa	GST	Concentrados			
			0	1,3	2,6	3,9
C8:0	0,00	0,00	0,02	0,03	0,00	0,00
C10:0	0,17	0,00	0,14	0,10	0,05	0,05
C12:0	0,78	0,02	0,15	0,32	0,02	0,03
C14:0	0,49	0,07	0,20	0,17	0,09	0,08
C15:0	0,25	0,00	0,06	0,01	0,01	0,00
C16:0	23,49	11,43	19,96	13,10	12,55	11,87
C16:1 <i>cis</i>	1,27	0,09	0,20	0,11	0,10	0,09
C17:0	0,33	0,09	0,18	0,11	0,11	0,10
C18:0	3,04	3,40	3,54	3,48	3,49	3,43
C18:1 <i>cis</i> -9	4,59	22,14	24,68	21,97	21,79	21,79
C18:1 (isômeros posicionais)	0,62	1,60	1,63	1,58	1,58	1,59
C18:1 isômeros <i>trans</i>	0,34	0,10	0,08	0,00	0,00	0,00
C18:2 <i>cis, cis</i>	19,66	53,22	43,91	51,51	52,45	53,12
C18:2 isômeros <i>trans</i>	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00
C18:3 n-3	42,42	6,77	3,71	6,32	6,63	6,73
C20:0	0,55	0,31	0,43	0,33	0,33	0,32
C20:1	0,00	0,20	0,21	0,21	0,21	0,16
C22:0	0,64	0,39	0,35	0,39	0,39	0,39
C24:0	1,21	0,16	0,43	0,25	0,19	0,20

Glasser et al. (2008) revisaram a concentração média de alguns AG referentes a 44 amostras de soja utilizadas em experimentos. Os autores não especificaram se o banco de dados tratava-se apenas do grão de soja “in natura” ou também grão de soja processado física/termicamente (quebrado, moído, tostado, extrusado, micronizado, entre outros). A concentração média para os ácidos palmítico, esteárico, C18:1 total, linoleico e α -linolênico foram de $11,4 \pm 1,9$; $4,1 \pm 0,6$; $22,3 \pm 2,5$; $53,5 \pm 3,2$ e $7,0 \pm 1,9$ g/100 g de AG, respectivamente. A concentração de AG do GST do presente estudo foi

semelhante às citadas acima. O ácido linoleico representou mais da metade (53,2% dos AG totais) da concentração total de AG do GST, seguida pela concentração intermediária dos ácidos oleico (22,1%) e palmítico (11,4%) e pequena concentração para os isômeros do ácido α -linolênico (6,8%) e ácido esterárico (3,4%).

Já os suplementos concentrados tiveram seus teores de AG aumentados em função da proporção de GST. Porém, deve-se ressaltar que houve pequena participação dos teores de AG dos outros ingredientes. De acordo com aumento da inclusão de GST no suplemento concentrado, houve redução dos AG C16:0, C14:0 e C16:1 *cis*-9, pouca alteração para C18:0, C18:1 *cis*-9 e C18:1 (isômeros posicionais) e aumento do α -linolênico e linoleico.

Alguns experimentos relataram perfil de AG das dietas semelhante ao do presente estudo. Em dietas contendo GST, Tice et al. (1994) relataram variação nas concentrações dos ácidos palmítico, esteárico, C18:1 total, linoleico e α -linolênico, respectivamente de 12,5 a 12,6; 3,31 a 3,41; 18,7 a 18,9; 50,9 a 51,8 e 7,38 a 7,49 g/100 g de AG total. Já Chouinard et al. (1997) relataram concentrações que variaram de 11,96 a 12,66; 3,96 a 4,11; 22,65 a 24,09; 1,29 a 1,36; 51,64 a 54,04 e 5,90 a 6,33 g/100 g de AG totais, respectivamente para os ácidos palmítico, esterárico, oleico, trans-vaccênico, linoleico e linolênico, em dietas contendo GS.

Houve efeito ($P < 0,05$) na concentração da maioria dos AG do leite com a inclusão de GST no concentrado (Tabela 5). Na Tabela 6 são apresentadas as concentrações dos AG agrupados quanto ao tamanho e à presença de duplas ligações na cadeia carbônica. As concentrações dos ácidos palmítico (C16:0) e mirístico (C14:0) reduziram linearmente ($P < 0,05$), em 28,5% e 39%, respectivamente, do tratamento 0 para 3,9 kg/vaca/dia de GST. A redução linear ($P < 0,05$) dos AG saturados totais de cadeia média (AGCM), chegando até 32%, corrobora com estas respostas (Tabela 6).

Não houve efeito ($P > 0,05$) para a concentração do ácido butírico (C4:0). Este achado é importante, pois no experimento do Capítulo 1 verificou-se que também não houve alteração do butirato e acetato no rúmen, mantendo-se esta tendência no leite. Há inter-conversão entre butirato e acetato no rúmen e butirato em β -hidroxi-butirato na parede ruminal. O β -hidroxi-butirato e, principalmente o acetato, são os substratos mais utilizados na síntese *de novo* de gordura na glândula mamária. Houve aumento no teor e na produção da gordura do leite no experimento do Capítulo 2 e, portanto a ausência de efeito na concentração do C4:0, redução dos AGCM e aumento do C18:2 na gordura do leite, leva a concluir que o maior aporte de AG de cadeia longa (AGCL) pré formados, foi responsável pela resposta encontrada.

Tabela 5 - Perfil de ácidos graxos – AG (g/100 g de AG totais) no leite de vacas Holandês x Gir em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementa com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado

Ácidos graxos (AG) ¹ (g/100 g de AG totais)	Concentrados				EPM ¹	Equação de Regressão
	T0	T1,3	T2,6	T3,9		
C4:0	3,67	3,63	3,58	3,51	0,043	ns ²
C6:0	1,99	1,84	1,68	1,54	0,026	$\hat{y} = 1,99 - 0,11X$ $r^2 = 0,48$
C8:0	1,38	1,01	0,88	0,76	0,017	$\hat{y} = 1,14 - 0,10X$ $r^2 = 0,55$
C10:0	2,40	2,02	1,70	1,42	0,044	$\hat{y} = 2,38 - 0,25X$ $r^2 = 0,62$
C11:0	0,34	0,27	0,22	0,17	0,006	$\hat{y} = 0,33 - 0,04X$ $r^2 = 0,66$
C12:0	2,84	2,33	1,92	1,60	0,006	$\hat{y} = 2,79 - 0,31X$ $r^2 = 0,71$
C13:0	0,06	0,05	0,04	0,04	0,044	$\hat{y} = 0,06 - 0,004X$ $r^2 = 0,44$
C14:0	10,6	8,86	7,66	6,44	0,117	$\hat{y} = 10,4 - 1,04X$ $r^2 = 0,80$
C14:1 <i>cis</i> -9	0,93	0,70	0,55	0,42	0,018	$\hat{y} = 0,90 - 0,13X$ $r^2 = 0,68$
C15:0	1,16	0,99	0,88	0,77	0,011	$\hat{y} = 1,14 - 0,10X$ $r^2 = 0,82$
C15:0 iso	0,44	0,38	0,32	0,26	0,006	$\hat{y} = 0,44 - 0,05X$ $r^2 = 0,74$
C15:0 anteiso	0,68	0,60	0,52	0,45	0,008	$\hat{y} = 0,68 - 0,06X$ $r^2 = 0,74$
C16:0	27,8	23,4	21,4	19,9	0,255	$\hat{y} = 27,0 - 1,99X$ $r^2 = 0,69$
C16:1 <i>cis</i> -9	1,28	1,01	0,82	0,74	0,019	$\hat{y} = 1,23 - 0,14X$ $r^2 = 0,58$
C17:0	0,55	0,50	0,46	0,43	0,007	$\hat{y} = 0,55 - 0,03X$ $r^2 = 0,59$
C17:1 <i>cis</i> -10	0,22	0,18	0,15	0,14	0,004	$\hat{y} = 0,21 - 0,02X$ $r^2 = 0,63$
C18:0	11,9	14,6	16,8	18,4	0,222	$\hat{y} = 12,1 + 1,67X$ $r^2 = 0,81$
C18:1 <i>trans</i> -4	0,02	0,03	0,04	0,04	0,001	$\hat{y} = 0,02 + 0,004X$ $r^2 = 0,54$
C18:1 <i>trans</i> -5	0,02	0,03	0,03	0,03	0,003	$\hat{y} = 0,02 + 0,003X$ $r^2 = 0,13$
C18:1 <i>trans</i> 6-8	0,16	0,19	0,22	0,23	0,005	$\hat{y} = 0,16 + 0,02X$ $r^2 = 0,48$
C18:1 <i>trans</i> -9	0,25	0,28	0,31	0,32	0,005	$\hat{y} = 0,26 + 0,02X$ $r^2 = 0,30$
C18:1 <i>trans</i> -10	0,20	0,22	0,25	0,26	0,010	$\hat{y} = 0,20 + 0,07X$ $r^2 = 0,19$
C18:1 <i>trans</i> -11	2,19	2,40	2,57	2,34	0,054	$\hat{y} = 2,2 + 0,3X - 0,06X^2$ $r^2 = 0,05$
C18:1 <i>trans</i> -12	0,26	0,32	0,39	0,41	0,007	$\hat{y} = 0,26 + 0,04X$ $r^2 = 0,59$
C18:1 <i>trans</i> -13 + 14	0,30	0,32	0,33	0,35	0,014	$\hat{y} = 0,30 + 0,13X$ $r^2 = 0,07$
C18:1 <i>cis</i> -9 + <i>trans</i> -15	19,8	22,6	24,1	25,9	0,177	$\hat{y} = 20,2 + 1,52X$ $r^2 = 0,67$
C18:1 <i>cis</i> -11	1,32	1,53	1,56	1,60	0,032	$\hat{y} = 1,37 + 0,08X$ $r^2 = 0,28$
C18:1 <i>cis</i> -12	0,31	0,42	0,47	0,53	0,001	$\hat{y} = 0,33 + 0,55X$ $r^2 = 0,72$
C18:1 <i>cis</i> -13	0,06	0,07	0,07	0,07	0,003	$\hat{y} = 0,06 + 0,002X$ $r^2 = 0,05$
C18:1 <i>trans</i> -16	0,24	0,34	0,35	0,38	0,027	$\hat{y} = 0,26 + 0,03X$ $r^2 = 0,16$
C18:2 <i>cis</i> -9 <i>cis</i> -12	1,76	3,16	4,47	5,76	0,136	$\hat{y} = 1,79 + 1,02X$ $r^2 = 0,83$
CLA <i>cis</i> -9 <i>trans</i> -11	0,95	0,98	1,01	0,93	0,023	ns
CLA <i>cis</i> -9 <i>trans</i> -12	0,09	0,08	0,06	0,06	0,003	ns
CLA <i>trans</i> -9, <i>cis</i> -11	0,03	0,04	0,03	0,03	0,002	ns
CLA <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	0,02	0,02	0,02	0,01	0,002	$\hat{y} = 0,02 - 0,002X$ $r^2 = 0,09$
C18:3 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	0,39	0,60	0,74	0,87	0,017	$\hat{y} = 0,41 + 0,12X$ $r^2 = 0,82$

continua...

C18:3 n-3 (isômeros)	0,11	0,12	0,12	0,11	0,002	ns
C20:0	0,15	0,16	0,18	0,18	0,003	$\hat{y} = 0,15 + 0,008X$ $r^2 = 0,37$
C20:1 <i>cis</i> -11	0,03	0,04	0,04	0,04	0,001	$\hat{y} = 0,03 + 0,003X$ $r^2 = 0,39$
C20:2 <i>cis</i> -11, <i>cis</i> -14	0,02	0,03	0,03	0,03	0,001	$\hat{y} = 0,03 + 0,001X$ $r^2 = 0,13$
C20:3 n-6	0,08	0,09	0,10	0,10	0,003	$\hat{y} = 0,08 + 0,007X$ $r^2 = 0,22$
C20:4 n-6	0,12	0,12	0,12	0,12	0,003	ns
C21:0	0,03	0,04	0,03	0,03	0,002	ns
C22:0	0,06	0,07	0,08	0,08	0,002	$\hat{y} = 0,07 + 0,003X$ $r^2 = 0,23$
C24:0	0,10	0,10	0,09	0,09	0,002	$\hat{y} = 0,10 - 0,05X$ $r^2 = 0,18$

¹AG quanto ao número de dupla ligações e número par ou ímpar de carbono; ²EPM = Erro-padrão da média; ³ns = não-significativo (P>0,05).

Além do teor decrescente dos AGCM com a inclusão de GST na dieta, provavelmente a síntese *de novo* na glândula mamária ocorreu de maneira semelhante entre os tratamentos, de forma que a diferença foi mantida no perfil da gordura do leite. Os efeitos negativos (trombogênicos, aterogênicos) relacionados com a ingestão de AGCM devem ser atribuídos principalmente ao C12:0, C14:0 e C16:0, pois estes são as indesejáveis “gorduras saturadas”. A redução nas concentrações desses AG no leite é interessante do ponto de vista da saúde humana. Portanto, avaliar os ácidos graxos saturados totais (AGST), ao invés do AGCM, como referência do produto ser mais ou menos saudável não é tão recomendado, pois o ácido esteárico (C18:0) participa de maneira importante no AGST e, comprovadamente, tem menor efeito negativo na saúde humana (não é aterogênico), comparado com os AGCM (Palmquist, 2010).

O aumento linear (P<0,05) na concentração do ácido esteárico com o aumento da suplementação lipídica (11,9 para 18,4 g/100 g de AG total do T0 para T3,9) demonstra que houve biohidrogenação (BH) completa do rúmen, pois os teores apresentados inicialmente nos concentrados e extrusa foram bem menores e apresentaram pouca diferença entre si (3,04 a 3,54 g/ 100 g de AG total).

Os AG com cadeia de carbono de número ímpar totais (AGímpar) foram reduzidos com o aporte de lípidos na dieta (P<0,05). A concentração destes AG é atribuída à variação entre quantidade de amido/fibra na dieta, reduzindo, concomitantemente, a redução de amido dietético (Vlaeminck et al., 2004). Neste experimento, a principal fonte de amido foi o milho moído. Na Tabela 1 verifica-se a diminuição do milho nas dietas de acordo com a inclusão de GST, o que pode explicar os resultados obtidos. Os AGímpar: C15:0; C15 antiso; C15 iso; C17:0 e C17:1 *cis*-10 apresentaram redução linear (P<0,05) com o aumento de GST na dieta, o que explica o resultado encontrado nos AGímpar. Segundo Vlaeminck et al. (2004), os ácidos C15:0 e C17:0 compõem a membrana das

bactérias amilolíticas, enquanto o ácido C15:0 *anteiso* é componente da membrana das celulolíticas.

Tabela 6 - Perfil de ácidos graxos – AG (g/100 g de AG totais) agrupados quanto ao tamanho da cadeia carbônica (curta, média e longa), número par ou ímpar de carbonos, presença e posição de ligações duplas ligações entre carbonos do leite de vacas Holandês x Gir em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado

Ácidos graxos (AG) ¹ (g/100 g de AG totais)	Concentrados				EPM ²	Equação de Regressão
	T0	T1,3	T2,6	T3,9		
Saturados Curta Par ⁴	9,21	8,51	7,85	7,22	0,112	$\hat{y} = 9,19 - 0,05X$ $r^2 = 0,51$
Saturados Média Par	40,3	34,6	31,0	27,9	0,362	$\hat{y} = 40,2 - 3,36X$ $r^2 = 0,80$
Saturados Longa Par	12,2	14,9	17,1	18,8	0,226	$\hat{y} = 12,5 - 1,68X$ $r^2 = 0,80$
Saturados Média Ímpar	2,10	1,82	1,60	1,41	0,016	$\hat{y} = 2,08 - 0,28X$ $r^2 = 0,89$
Saturados Longa Ímpar	0,03	0,03	0,03	0,03	0,001	ns ³
Saturados Ímpar Totais	2,13	1,85	1,63	1,44	0,016	$\hat{y} = 2,10 - 0,18X$ $r^2 = 0,89$
Saturados Curta Totais	9,21	8,51	7,85	7,22	0,112	$\hat{y} = 9,19 - 0,51X$ $r^2 = 0,51$
Saturados Média Totais	43,4	36,5	32,6	29,3	0,371	$\hat{y} = 42,2 - 3,53X$ $r^2 = 0,81$
Saturados Longa Totais	12,2	14,9	17,1	18,8	0,226	$\hat{y} = 12,5 + 1,68X$ $r^2 = 0,80$
Saturados Totais	64,8	59,9	57,6	55,3	0,410	$\hat{y} = 64,0 - 2,36X$ $r^2 = 0,65$
Monoinsaturados Par Cis	23,8	26,4	27,6	29,3	0,198	$\hat{y} = 24,1 + 1,38X$ $r^2 = 0,58$
Monoinsaturados Par Trans	3,63	4,15	4,48	4,35	0,079	$\hat{y} = 3,6 + 0,6X - 0,1X^2$ $r^2 = 0,58$
Monoinsaturados Par Total	27,4	30,54	32,12	33,68	0,206	$\hat{y} = 27,9 + 1,57X$ $r^2 = 0,62$
Monoinsaturados Ímpar	1,34	1,16	0,99	0,84	0,014	$\hat{y} = 1,33 - 0,13X$ $r^2 = 0,82$
Mono insaturados Totais	28,7	31,7	33,1	34,5	0,203	$\hat{y} = 29,2 - 1,44X$ $r^2 = 0,58$
Ímpar Totais	3,48	3,01	2,62	2,28	0,027	$\hat{y} = 3,44 - 0,30X$ $r^2 = 0,88$
Poli-insaturados Totais	3,58	5,23	6,71	8,03	0,154	$\hat{y} = 3,66 + 1,14X$ $r^2 = 0,81$

¹AGs agrupados quanto a presença (saturados ou insaturados), número (mono-insaturado ou poli-insaturados) e posição geométrica (*cis* ou *trans*) de duplas ligações entre carbonos e quanto ao número de carbonos (par ou ímpar); AG² agrupados quanto ao tamanho da cadeia carbônica: curta (<8C), média (8 a 16C) e longa (>16C); ³EPM = Erro-padrão da média; ⁴ns = não-significativo (P>0,05).

Houve aumento linear (P<0,05) do C18:1 *trans*-10. Este monoinsaturado advém principalmente da hidrogenação do CLA *trans*-10 *cis*-12, que pela “teoria da biohidrogenação” é o principal responsável pela depressão da gordura do leite (Bauman & Griinari, 2001). Geralmente, dietas que induzem a depressão da gordura do leite, apresentaram aumento dos teores desses isômeros (Piperova et al., 2000). Porém, no presente estudo este isômero foi reduzido de forma linear (P<0,05) com o crescente aporte de lipídeos na dieta, que resultou em aumento do teor e da produção da gordura do leite (Capítulo 2).

A adição crescente de GST na dieta, propiciou aumento linear ($P < 0,05$) da concentração do ácido oleico (C18:1 *cis*-9) no leite. O GST foi a principal fonte de ácido oleico da dieta, pois apresentou maior concentração que o pasto (22,1 vs 4,6 g/ 100 g de AG totais). O ácido oleico pode ser originado em até 50% pela dessaturação do ácido esteárico por meio da enzima delta-9-dessaturase (Δ^9) na glândula mamária (Chilliard, 2000). Porém, observou-se aumento ($P < 0,05$) da relação C18:0/C18:1 *cis*-9 (tabela 7), o que indicou menor atividade da Δ^9 na glândula mamária. Provavelmente, a passagem do ácido oleico do rúmen, advindo da dieta e/ou originado da BH dos AGPI contribuíram para o aumento de sua concentração no leite. Este efeito é desejável, pois a este ácido é atribuído efeito anti-colesterolêmico, principalmente na redução da concentração do LDL (Assunção, 2007).

Houve efeito quadrático ($P = 0,05$) para a concentração do ácido vaccênico (C18:1 *trans*-11). Pela derivação da equação quadrática $\hat{y} = 2,2 + 0,3x - 0,065x^2$, observou-se aumento da concentração de acordo com o incremento de GST até a quantidade de 2,31 kg/vaca/dia. A partir desta quantidade, houve redução da concentração deste ácido de acordo com o incremento de GST, e, provavelmente, houve redução das enzimas responsáveis por sua formação (Griinari et al., 2000).

Não houve efeito ($P > 0,05$) da crescente suplementação de GST nos teores do principal isômero do CLA, o ácido rumênico (C18:2 *cis*-9,*trans*-11). A primeira explicação foi a redução linear ($P = 0,04$) da atividade da enzima Δ^9 , responsável por sua síntese na glândula mamária (Tabela 7).

Tabela 7 – Atividade da enzima delta-9-dessaturase avaliada por meio da relação entre os pares dos ácidos graxos C14:0/C14:1 (Delta 14); C16:0/C16:1 (Delta 16); C18:0/C18:1 *cis*-9 (Delta 18) e C18:1 *trans*-11/ C18:2 *cis*-9,*trans*-11 (Delta-CLA) do leite de vacas Holandês x Gir em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado

Atividade da enzima	Concentrados				EPM ¹	Equação de Regressão ²
	T0	T1,3	T2,6	T3,9		
Delta 14	0,09	0,08	0,07	0,07	0,002	$\hat{y} = 0,08 - 0,005X$ ($r^2 = 0,20$)
Delta 16	0,04	0,04	0,04	0,04	0,001	$\hat{y} = 0,05 - 0,002X$ ($r^2 = 0,17$)
Delta 18	1,67	1,56	1,45	1,41	0,022	$\hat{y} = 1,66 - 0,07X$ ($r^2 = 0,31$)
Delta-CLA	0,43	0,41	0,40	0,40	0,007	$\hat{y} = 0,42 - 0,007X$ ($r^2 = 0,05$)

¹EPM = Erro-padrão da média; ²significativo quando $P < 0,05$.

Corroborando com esta explicação, também houve redução ($P < 0,05$) da atividade da enzima Δ^9 para a saturação dos pares C14:0/C14:1; C16:0/C16:1 e C18:0/C18:1 *cis*-9,

que pode ser comparado com o trabalho de Griinari et al. (2000). Segundo esses autores, o produto das relações C14:0/C14:1; C16:0/C16:1 e C18:0/C18:1 *cis*-9 também indicam a atividade da enzima Δ^9 e quando a relação aumenta, significa menor atividade desta enzima. No presente estudo todas essas relações aumentaram ($P < 0,05$) do T0 para T3,9 em 42; 19 e 14%, para C14:0/C14:1; C16:0/C16:1 e C18:0/C18:1 *cis*-9+*trans*-15, respectivamente.

Os resultados encontrados para a concentração de ácido rumênico, também podem ser explicados pelo efeito da suplementação crescente de GST sobre a concentração do ácido *trans*-vaccênico (C18:1 *trans*-11), pois este é seu principal precursor na glândula mamária e o aumento em sua concentração pode ter sido insuficiente para elevar a concentração do ácido rumênico.

O ácido *trans*-vaccênico é intermediário da BH bacteriana no rúmen do ácido linoleico e, portanto é influenciado pelas condições do ambiente ruminal (Griinari et al., 2000). No experimento do Capítulo 1, verificou-se que a média de pH do rúmen encontrada foi de 5,9. Van Nevel & Demeyer (1996) demonstraram em estudos *in vitro* que o pH abaixo de 6 reduziu a lipólise dos AG. Para que ocorra a BH, os AG devem estar na forma livre e com a inibição da lipólise, há redução da BH. De fato, AlZahal et al. (2009) encontraram menor teor de ácido rumênico em vacas com a redução do teor de FDN da dieta (40 para 32%) devido ao menor pH. Dietas com baixa fibra apresentaram pH médio abaixo de 6.

Fatores que influenciam a atividade da Δ^9 são descritos na literatura. Esta enzima está presente tanto no tecido adiposo quanto no mamário dos bovinos. Vacas em lactação apresentam maior expressão desta enzima no tecido mamário que nos adipócitos (Martin et al., 1999). O aumento da atividade desta enzima também é aumentada com o aporte do C18:1 *trans*-11 chegando à glândula mamária (Jenkins et al., 2008).

Segundo revisão feita por Bernard et al. (2010), a atividade desta enzima pode ser diminuída pelo maior aporte de alguns AGPI (C20:5 n3 e C22:6 n6) e/ou aumento do isômero de CLA *trans*-10, *cis*-12. Este isômero foi comprovadamente demonstrado inibir enzimas responsáveis pela síntese de gordura do leite, tais como acetil CoA carboxilase e ácido graxo sintetase (Piperova et al., 2000), o que neste experimento não foi verificado.

A atividade da Δ^9 representou ser o mais importante na síntese do ácido rumênico a partir do ácido *trans*-vaccênico, comparado ao tipo de dieta (relação volumoso: concentrado, suplementação lipídica), fluxo de *trans*-vaccênico sanguíneo, espécie de ruminante ou metodologia experimental, em revisão feita por Bernard et al. (2010).

Portanto, dos fatores acima citados, provavelmente o menor aporte de trans-vaccênico foi o responsável pela menor atividade da enzima Δ^9 , pois houve menor formação deste intermediário no rúmen, pela maior proteção promovida pela tostagem do grão.

No presente estudo a concentração dos ácidos rumênico e trans-vaccênico variaram, respectivamente, de 0,93 a 1,01 e 2,19 a 2,57 g/ 100 g de AG totais. Mesmo com a ausência de efeito do GST, estes valores encontram-se próximos ou dentro da variação relatada por outros autores que trabalharam com gramíneas de clima tropical: 1,01 e 1,79 g/100 g AG totais para o ácido rumênico e trans-vaccênico, respectivamente (Lopes et al., 2011); 1,28 a 4,59 (rumênico) e 2,0 a 9,35 (trans-vaccênico) g/100 g de AG totais (Ribeiro, 2009).

O aumento linear ($P < 0,05$) das concentrações do ácido linoleico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12) e do ácido α -linolênico (C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15) demonstra que o maior aporte com a adição do GST na dieta não foi proporcionalmente acompanhado pela BH ruminal, refletido na ausência de efeito dos tratamentos sobre a concentração de ácido rumênico. A causa mais provável é que a tostagem propiciou liberação muito lenta do óleo do grão a ponto deste ter chegado inalterado ou pouco alterado no intestino. Segundo Dhiman et al. (2005), o óleo fornecido por meio dos grãos são menos propensos de causar alteração no perfil da gordura do leite comparado ao óleo livre devido à menor disponibilidade dos AGPI à BH ruminal. De fato, alguns trabalhos atribuíram a tostagem como responsável pela menor liberação do óleo do grão para BH ruminal e aumento das concentrações dos ácidos linoleico e α -linolênico no leite de vacas (Scott et al., 1991; Reddy et al., 1994; Chouinard et al., 1997).

O efeito da tostagem em reduzir a taxa de lipólise e BH dos AGPI foi atribuído a diferentes fatores: conteúdo intracelular do óleo, modificações químicas dos AG durante a tostagem (peroxidação dos AG, favorecendo a ligação destes com os aminoácidos da matriz proteica do grão), liberação lenta do óleo do grão devido à menor digestibilidade da MS do grão promovida pela tostagem (Reddy et al., 1994) ou durante o *steeping* (Scott et al., 1991). Diferentemente, alguns trabalhos relataram efeito do GST no aumento dos teores de CLA total no leite de vacas (Dhiman et al., 2000; Chouinard et al., 2001). A tostagem aumentou a liberação do óleo no rúmen comparado ao GS e, segundo Dhiman et al. (2000), a tostagem deixou a soja mais frágil, portanto com maior facilidade para liberar o óleo.

Não foram encontrados na literatura, trabalhos com a utilização do GST em dietas de vacas sob pastejo de gramíneas de clima tropical avaliando o perfil de AG do leite. Entretanto, alguns experimentos utilizando óleo de soja em condições de clima tropical

apresentaram resultados semelhantes aos do presente estudo para alguns AG (Ribeiro, 2009; Costa, 2008 e Santos et al., 2001). Ribeiro (2009) suplementou quantidades crescentes de OS (0; 1,5; 3,0 e 4,5% da MS) para vacas recebendo capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) e encontrou redução nas concentrações dos AG de cadeia curta, média e ímpar. Porém, houve aumento nos teores dos ácidos rumênico e *trans*-vaccênico, com o aumento do OS na dieta. Estes resultados demonstraram que a BH parcial do OS no rúmen aumentou os teores de *trans*-vaccênico, propiciando substrato na glândula mamária para a atividade da enzima Δ^9 dessaturase. Entretanto, no presente estudo não houve liberação do óleo no rúmen para aumentar os teores de *trans*-vaccênico. Esta resposta reflete a menor elevação na concentração dos AG monoinsaturados totais (16,7 x 44%), porém com aumento semelhante para os poli-insaturados (55 e 54%), respectivamente, entre este estudo e o de Ribeiro (2009).

De maneira geral, os resultados dos experimentos de Ribeiro (2009), Costa (2008) e Santos et al. (2001) comparados aos do presente estudo, demonstram que a utilização do OS foi mais eficiente do que a utilização do GS tratado ou não, em promover aumento nas concentrações de ácido rumênico na gordura do leite de vacas. Entretanto, a inclusão de ambas as fontes de óleo produziram resultados semelhantes na redução de AG de cadeia curta e média, destacando-se a redução do ácido mirístico, o que é muito desejável. Apenas o presente estudo apresentou aumento da concentração do ácido linoleico na concentração da gordura do leite.

Os resultados dos estudos revisados demonstraram o potencial do óleo de soja (*in natura* ou por meio do grão) em aumentar o teor de CLA, porém os ganhos não possuem comportamento linear com a crescente suplementação. Diferenças entre os processamentos do GS podem propiciar maior ou menor liberação do óleo no rúmen e, conseqüentemente, diferentes efeitos sobre o perfil de ácidos graxos do leite.

6 - CONCLUSÃO

A suplementação crescente de GST não aumentou a concentração do ácido rumênico, devido à maior proteção do óleo para a biohidrogenação ruminal. Porém, foi eficiente em reduzir as concentrações dos AG de cadeia média, bem como a dos AG oleico, linoleico e α -linolênico, tornando o leite mais saudável para o consumo humano.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALZAHAL, O.; OR-RASHID, M.M.; GREENWOOD, S.L. et al. The effect of dietary fiber level on milk fat concentration and fatty acid profile of cows fed diets containing levels of polyunsaturated fatty acids. *Journal of Dairy Science*, v.92, p. 1108-1116, 2009.

ASSUNÇÃO, J.M.P. *Contribuição para o estudo da composição lipídica e do valor nutricional de leites e produtos lácteos dos açores*. 2007. 113p. Dissertação de mestrado em controlo da qualidade e toxicologia dos alimentos: Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.

BARGO, F.; DELAHOY, J.E.; SCHROEDER, G.F. et al. Supplementing total mixed rations with pasture increase the content of conjugated linoleic acid in milk. *Animal Feed Science and Technology*, v.131, p.226–240, 2006.

BAUMAN, D.E.; PERFIELD, J.W.; HAVARTINE, K.J. et al. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acids: lactation and ruminant model. *Journal of Nutrition*, v. 138, p. 40-409, 2008.

BAUMAN, D.E.; GRINARI, J.M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Reviews of nutrition*, v. 23, p. 203-227, 2003.

BAUMAN, D.E.; GRINARI, J.M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock of Production Science*, v.70, p.15-20, 2001.

BAUMAN, D. E; BAUMGARD, L. H; COR, B. A. et al. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proceedings of the American Society of Animal Science*, 1999.

BAUMAN, D.E.; DAVIS, C.L.; BUCHOLTZ, H.F. Propionate production in the rumen of cows fed either a control or high grain, low fiber diet. *Journal of Dairy Science*, v.54, p. 1282-1287, 1971.

BESSA, R.J.B; SANTOS-SILVA, J.; RIBEIRO, R.M.R. et al. Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livestock Production Science*, v. 63, p. 201-211, 2000.

BERNARD, L.; MOURIOT, J.; ROUEL, J. Effects of fish oil and starch added to a diet containing sunflower-seed oil on dairy goat performance, milk fatty acid composition and in vivo D0-desaturation of [13C] vaccenic acid. *British Journal of Nutrition*, v.104, p. 346-354, 2010.

BHATTACHARYA, A.; BANU, J.; RAHMAN, M. et al. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v.17, p.789-810, 2006.

CASTRO, T; MANSO, T; JIMENO, V. et al. Effects of dietary sources of vegetable fats on performance of dairy ewes and conjugated linoleic acid (CLA) in Milk. *Small Ruminant Research*, v.84, p. 47–53, 2009.

CARVALHO FILHO, O.M. de. *Uso e manejo de bovinos fistulados no esôfago em ensaios de pastejo*. Petrolina, PE: EMBRAPA/CPATSA, 1981. 24p. (EMBRAPA/CPATSA. Documentos, 8).

CHILLIARD, Y; GLASSER, F; FERLAY, A. et al. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *European Journal of Lipids Science and Technology*, v 109, p 828–855, 2007.

CHILLIARD, Y; FERLAY, A; DOREAU, M. et al. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science*, v. 70, p. 31–48, 2001.

CHOUIRNAD, P.Y.; GIRARD, V.; BRISSON, G.J. Performance and profile of milk fatty acids of cows fed full fat, heat-treated soybeans using various processing methods. *Journal of Dairy Science*, v.80, p.334-342, 1997.

CHOUINARD, P.Y.; CORNEAU, L.; BUTLER, W.R. et al. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *Journal of Dairy Science*, v.84, p.680-690, 2001.

CHRISTIE, W.W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. *Journal of Lipid Research*, v.23, p.1072, 1982.

COLLOMB, M.; SCHMID, A.; SIEBER, R. et al. Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. *International Dairy Journal*, v.16, p. 1347-1361, 2006.

COOK, M. E.; PARIZA, M. The role of conjugated linoleic acid (CLA) in health. *International Dairy Journal*, Winsconsin, v.8, p. 459-462, 1998.

COSTA, M.G. Rações com diferentes fontes de gordura para vacas em lactação. 2008. 119f. Tese de Doutorado em zootecnia – UFV, Viçosa, Minas Gerais.

CRUZ-HERNANDEZ, C.; KRAMER, J.K.G.; KENNELLY, J.J. et al. Evaluating the conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in Milk fat of dairy cows fed increasing amounts of sunflower oil and a Constant level of fish oil. *Journal of Dairy Science*, v.90, p. 3786-3801, 2007.

DESTAILLATS, F.; GOLAY, P.A.; JOFFRE, F. et al. Comparison of available analytical methods to measure trans-octadecenoic acid isomeric profile and content by gas-liquid chromatography in milk fat. *Journal of Chromatography A*, v. 1145, p. 222-228, 2007.

DEWHURST, R.J.; SHINGFIELD, K.J; LEE, M.R.F. et al. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Animal Feed Science and Technology*, v.131, p.168–206, 2006.

DEWHURST, R.J., SCOLLAN, N.D., YOUELL, S.J .et al. Humphreys, M.O. Influence of species, cutting date and cutting interval on the fatty acid composition of grasses. *Grass Forage Science*, v.56, p. 68–74, 2001.

DEWHURST, R.J., KING, P.J. Effects of extended wilting, shading and chemical additives on the fatty acids in laboratory grass silages. *Grass Forage Science*, v.53, p.219–224, 1998.

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

DHIMAN, T.R.; SATTER, L.D.; PARIZA, M.W. et al. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *Journal of Dairy Science*, v. 83, p. 1016-1027, 2000.

DHIMAN, T.R.; KOREVAAR, A.C.; SATTER, L.D. Particle size of roasted soybeans and the effect on milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 80, p. 1722-1727, 1997.

DHIMAN, T. R.; ZANTEN, K. V.; SATTER L. D. Effect of dietary fat source on fatty acid composition of cow's milk. *Journal Science Food Agriculture*, v. 69, p.101–107, 1995.

DOREAU, M.; PONCET, C. Ruminant biohydrogenation of fatty acids originating from fresh or preserved grass. *Reproduction and Nutrition Development*, v.40, p.201-206, 2000.

ELGERSMA, A.; TAMMINGA, S.; ELLEN, G. Modifying milk composition through forage. *Animal Feed Science and Technology*, v.131, p.207-225, 2006.

FERNANDES, S.A.A. ; MATTOS, W.R.S ; MATARAZZO, S.V. et al. Perfil de ácidos graxos 14 em alimentos de clima tropical utilizados nas dietas para ruminantes. *Boletim de Indústria Animal*, v. 64, p. 19-27, 2007

FUNK, L. G.; BARRERA-ARELLANO, D.; BLOCK, J. M. Ácido Linoléico Conjugado e sua relação com a doença cardiovascular e os fatores de risco associados. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, Caracas, v. 56, n. 2, p.1-15. 2006.

GAMA, M.A.S.; LOPES, F.C.F.; RIGUEIRA, J.C.S. et al. Perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa de manteigas oriundas de vacas recebendo dietas com óleo de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 21., 2008, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: SBCTA/UFMG, 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, 2008.

GRIINARI, J.M.; DWYER, D.A.; McGUIRE, M.A. et al. *Trans*-Octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.81, p.1251-1261, 1998.

GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H. et al. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Delta(9)-desaturase. *Journal Nutrient* ,v.130, n.9, p.2285-2291, 2000.

- HARA, A.; RADIN, N.S. Lipid extraction of tissues with low-toxicity solvent. *Analytical Biochemistry*, v.90, p.420-426, 1978.
- HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory Practice*, v.22, n.8, p.175-176, 1973.
- HUANG, Y.; SCHOONMAKER, J.P.; BRADFORD, B.J. et al. 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.
- IP, C.; SINGH, M.; THOMPSON, H.J. et al. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Research*, v.54, p.1251-1215, 1994.
- JENKINS, T.C.; WALLACE, R.J.; MOATE, P.J. et al. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids with the rumen microbial ecosystem. *Journal of Animal Science*, v.86, p.397-416, 2008.
- JENSEN, R.G. Invited review: the composition of bovine milk lipids. *Journal of Dairy Science*, v.85, p.295-350, 2002.
- KHAN, N.A.; CONE, J.W.; HENDRIKS, W.H. et al. Stability of fatty acids in grass and maize silages after exposure to air during the feed out period. *Animal Feed Science and Technology*, v. 154, p. 183–192, 2009.
- KHANAL, R.C.; DHIMAN, T.R.; BOMAN, R.L. Changes in fatty acid composition of milk from lactating dairy cows during transition to and from pasture. *Livestock Science*, v.114, p. 164–175, 2008.
- KHANAL, R. C.; DHIMAN, T. R.; URE, A. L. et al. Consumer Acceptability of Conjugated Linoleic Acid-Enriched Milk and Cheddar Cheese from Cows Grazing on Pasture. *Journal Dairy Science*, v. 88, p.1837–1847, 2005
- KRAMER, J.K.G.; PARODI, P.W.; JENSEN, R.G. et al. Rumenic acid: a proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. *Lipids*, v.33, n.8, p.835, 1998.
- HUANG, Y.; SCHHONMAKER, J.P.; BRADFORD, B.J. et al. 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.
- LAWSON, R. E.; MOSS, A. R.; GIVENS, D. I. The role of dairy products in supplying conjugated linoleic acid to man's diet: a review. *Nutrition Research Reviews*, v. 14, p. 153-172, 2001.
- LINDMARK-MANSSON, H.; FONDE'N, R.; PETTERNSSON, H.E. et al. Composition of Swedish dairy milk. *International dairy Journal*, v. 13, p.409-425, 2003.
- LOPES, F.C.F.; RIBEIRO, C.G.S.; RIBEIRO, M.T. et al. Milk fatty acid profile from dairy cows fed increasing levels of soybean oil in diets based on tropical forage. In: XIth International Symposium on ruminant physiology. 11. 2009. Clermont-Ferrant. *Proceedings...* Wageningen:Wageningen Academic Publishers, 2009, p.588-589.

LOPES, F.C.F.; BARROS, P.A.V.; BRUSCHI, J.H.; et al. Perfil de ácidos graxos no leite de vacas Holandês em pastagens tropicais suplementadas com dois níveis de concentrado. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.63, p. 518-521, 2011. Comunicação.

MARTIN, G.S.; LUNT, D.K.; BRITAIN, K.G. et al. Postnatal development of stearoyl coenzyme A desaturase gene expression and adiposity in bovine subcutaneous adipose tissue. *Journal of Animal Science*, v.77, p. 630-636, 1999.

OFFICIAL Methods of analysis. 15 Ed., Arlington, VA: AOAC, 1990. 1141p.

OCHOA, J.J; FARQUHARSON, J.A; GRANT, I. et al. Conjugated linoleic acids (CLAs) decrease prostate cancer cell proliferation: different molecular mechanisms for cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 isomers. *Carcinogenesis*, v.25, p.1185--1191, 2004.

PALMQUIST, D.L. Great discoveries of milk for a healthy diet and a healthy life. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, p.465-477, 2010 (supl. especial)

PARK, Y. Conjugated linoleic acid (CLA): Good or bad trans fat? *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 22S, p. S4–S12, 2009.

PARK, Y, & PARIZA, M. W. Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). *Food Research International*, v.40, p. 311–323, 2007.

PARIZA, M. W.; PARK, Y.; COOK, M. E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research*, v. 40, p. 283–298, 2001.

PIPEROVA, L.S.; TETER, B.B.; BRUCKENTAL, I. Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fed-depressing diet. *Journal of Nutrition*, v.130, p. 2568-2574, 2000.

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.

RIBEIRO, C.G.S. Níveis crescentes de óleo de soja em dieta baseada em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Shumack) picado sobre parâmetros da fermentação e cinética ruminal, composição e perfil de ácidos graxos do leite de vacas mestiças. 2009. 118p. Dissertação de mestrado em zootecnia: UFMG, Belo Horizonte, MG.

RITZENTHALER, K.L.; McGUIRE, M.K.; FALEN, R. et al. Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology. *The Journal of Nutrition*, v. 131, p.1548-1554, 2001.

ROACH, J.A.G; MASSOBA, M.M.; YURAWECZ, P.M. et al. Chromatographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers. *Analytica Chimica Acta*, v.465, p.207-226, 2002.

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

SANTOS, F.L.; SILVA, M.T.C.; LANA, R.P. et al. Efeito da suplementação de lipídios na ração sobre a produção de ácido linoléico conjugado (CLA) e a composição da gordura do leite de vacas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, p.1931-1938, 2001.

SCHMID, A; COLLOMB, M; SIEBER, R et al. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: A review. *Meat Science* , v.73, p. 29–41. 2006.

SCOTT, T.A.; COMBS, D.K.; GRUMMER, R.R. Effects of roasting, extrusion and particle size on the feeding value of soybeans for dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.74, p.2555-2562, 1991.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. *Análise de alimentos.: métodos químicos e biológicos*. 3 ed. Viçosa: UFV, 2002, 235p.

STATISTICAL analyses systems – SAS: User's guide: Statistics, Version 5.ed. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2002.

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.166-180, 1994.

TURPEINEN, A.M; MUTANEN, M; ARO, A. et al. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in Humans. *American Journal Clinical Nutrition*, v;76, p. 504–510, 2002.

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

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

VAN WIJELLEN, R.P.J.; COLOMBANI, P.C. Grass-based ruminant production methods and human bioconversion of vaccenic acid estimations of maximal dietary intake of conjugated linoleic acids. *International Dairy Journal*, v.20, p.433-448 (2010).

VLAEMINCK, B.; FIEVEZ, V.; VAN LAAR, H. et al. Rumen odd and branched chain fatty acids in relation to in vitro rumen volatile fatty acid productions and dietary characteristics of incubated substrates. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v.88, p.401-411, 2004.

WARENSJO, E.; NOLAN, D.; TAPSELL, L. Dairy food consumption and obesity-related chronic disease. *Advances in Food and Nutrition Research*, v.59, p.1-41, 2010.

ZHAI, J.J; LIUB, Z.L; LIC, J.M. et al. Different mechanisms of cis-9,trans-11- and trans-10,cis-12- conjugated linoleic acid affecting lipid metabolism in 3T3-L1 cells. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 21, p. 1099–1105, 2010.

Anexos

Capítulo 1

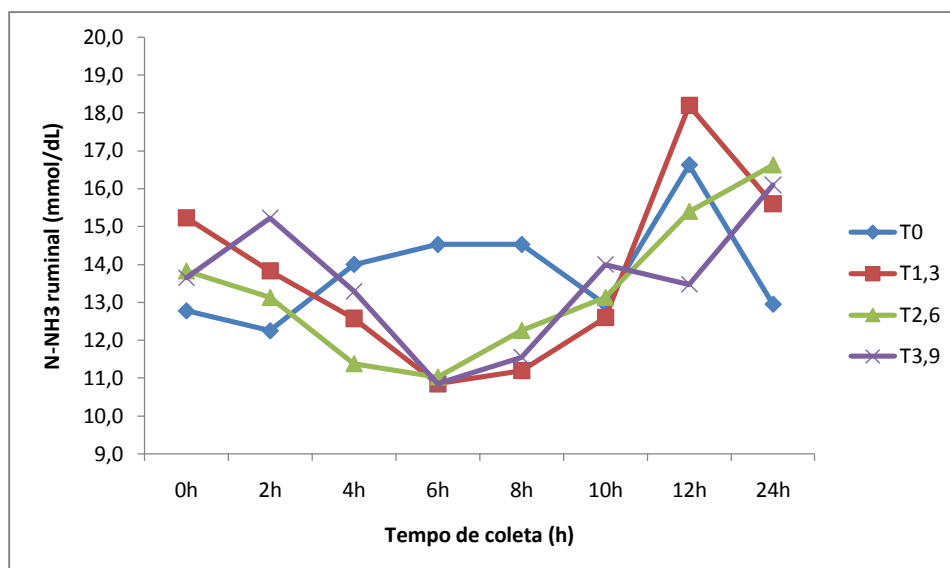


Figura 1 – Variação diária da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) ruminal de vacas Holandês x Gir, lactantes, em pastejo de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado

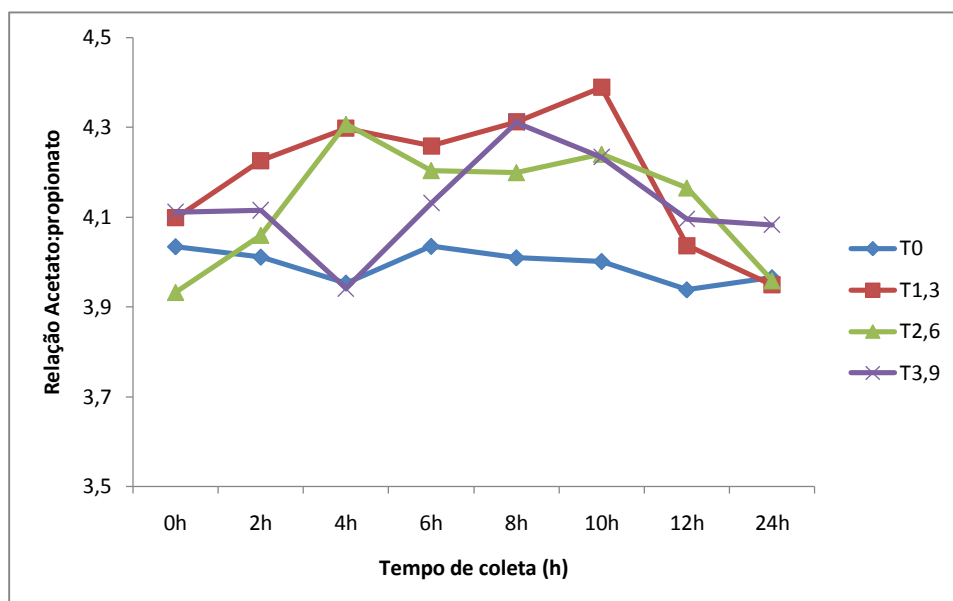


Figura 2 – Variação diária da relação acetato:propionato no rúmen de vacas Holandês x Gir, lactantes, em pastejo de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado

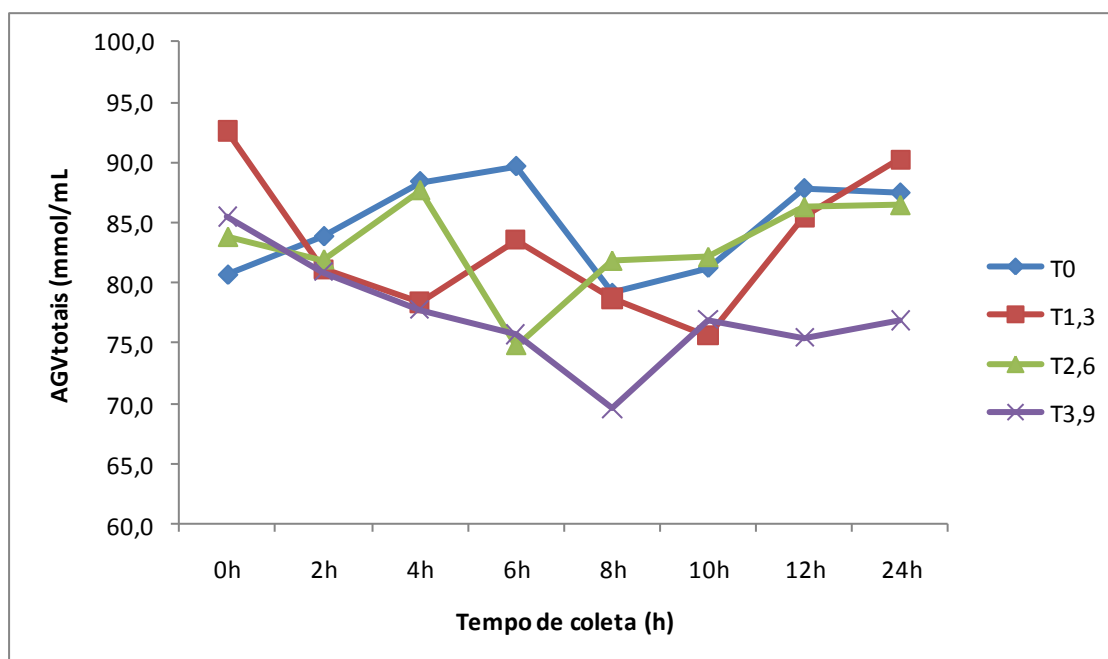


Figura 3 - Variação diária da produção de ácidos graxos voláteis totais (AGVtotais) no rúmen de vacas Holandês x Gir, lactantes, em pastejo de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado

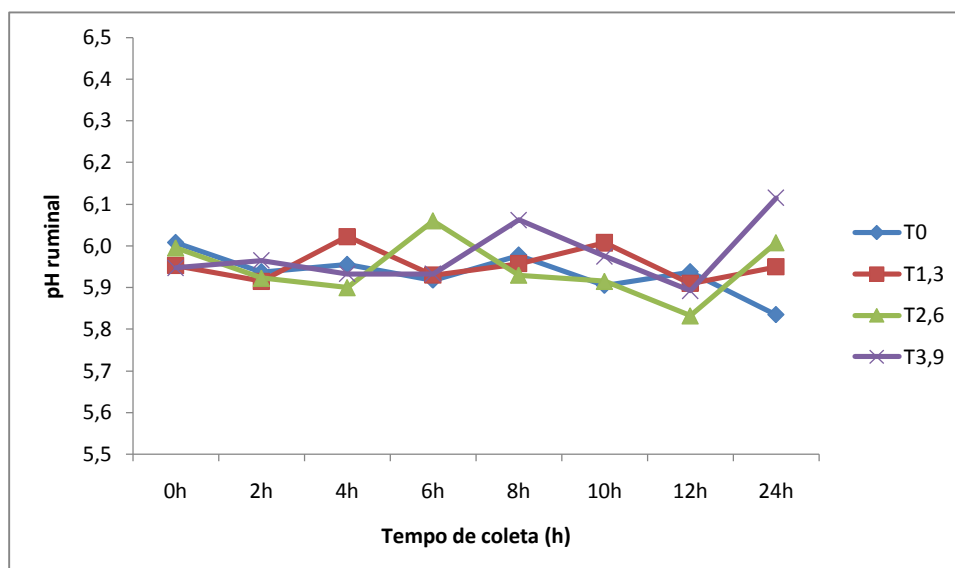


Figura 4 – Variação diária do pH no rúmen de vacas Holandês x Gir lactantes, em pastejo de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado

Tabela 1 – Produção (kg/vaca/dia ou g/vaca/dia) e composição do leite de vacas Holandês x Gir fistuladas no rúmen, em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado

Parâmetro	Concentrados				EPM ¹	Valor de P	
	T0	T1,3	T2,6	T3,9		L ²	Q ⁴
Produção de leite, kg	19,8	20,4	19,9	17,9	0,653	ns ⁴	ns
PLC3,5% ⁵ , kg	21,0	20,5	19,3	16,6	0,973	0,08	ns
Teor de gordura, %	3,33	3,52	3,63	3,78	0,098	0,04	ns
Gordura, g	659	717	721	681	29,64	ns	ns
Teor de proteína, %	3,02	3,04	3,00	3,01	0,029	ns	ns
Proteína, g	599	617	595	531	17,94	ns	ns
Teor de lactose, %	4,32	4,30	4,28	4,26	0,011	ns	ns
Lactose, g	853	876	853	768	27,02	ns	ns
Teor de ST ⁶ , %	11,6	11,8	11,8	12,0	0,104	ns	ns
ST, g	2.297	2.402	2.357	2.150	75,22	ns	ns
Teor de ESD ⁷ , %	8,3	8,3	8,2	8,2	0,026	ns	ns
ESD, g	1.638	1.685	1.635	1.470	50,44	ns	ns
Teor de NUL ⁸ , %	19,4	20,3	19,1	19,4	0,604	ns	ns
Escore linear de CCS ⁹	4,16	4,16	3,82	4,54	0,322	ns	ns

^aEPM = Erro-padrão da média; ^bL = efeito linear; ^cQ = efeito quadrático; ^dns = não-significativo (P>0,10);

⁵PLC3,5% = produção de leite corrigida para gordura a 3,5% (Sklan et al., 1992); ⁶ST = sólidos totais;

⁷ESD = extrato seco desengordurado; ⁸NUL = nitrogênio uréico do leite; ⁹CCS = contagem de células somáticas.

Tabela 2 – Perfil dos ácidos graxos (g/100 g de gordura) do leite de vacas Holandês x Gir fistuladas no rúmen, em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada com 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado

Parâmetro	Concentrados				EPM ¹	Valor de P	
	T0	T,3	T2,6	T3,9		L ²	Q ⁴
C4:0	3,47	3,57	3,32	3,28	0,140	ns ⁴	ns
C6:0	1,80	1,77	1,61	1,43	0,051	0,026	ns
C8:0	0,99	0,96	0,82	0,70	0,020	0,008	ns
C10:0	2,09	1,93	1,65	1,34	0,045	0,002	ns
C11:0	0,31	0,26	0,22	0,17	0,0176	0,005	ns
C12:0	2,54	2,22	1,88	1,56	0,058	<0,001	ns
C13:0	0,06	0,06	0,05	0,04	0,004	0,005	ns
C14:0	10,38	8,85	8,03	6,70	0,239	<0,001	ns
C15:0 iso	0,41	0,32	0,31	0,25	0,027	<0,001	ns
C15 anteiso	0,71	0,60	0,54	0,49	0,056	0,001	ns
C14:1 <i>cis</i> -9	1,00	0,73	0,60	0,51	0,079	0,004	ns
C15:0	1,24	1,03	0,95	0,84	0,059	<0,001	ns
C16:0	28,25	22,56	22,10	21,14	1,423	0,0059	ns
C16:1 <i>cis</i> -9	1,31	0,85	0,75	0,75	0,127	0,005	0,05
C17:0	0,57	0,50	0,47	0,44	0,027	0,004	ns
C17:1 <i>cis</i> -10	0,22	0,17	0,14	0,14	0,015	0,002	0,04
C18:0	12,04	14,67	16,09	17,29	0,828	0,0011	ns
C18:1 <i>trans</i> -4	0,02	0,03	0,04	0,04	0,004	0,018	ns
C18:1 <i>trans</i> -5	0,02	0,03	0,03	0,03	0,003	ns	ns
C18:1 <i>trans</i> -6-8	0,18	0,20	0,24	0,25	0,015	0,006	ns
C18:1 <i>trans</i> -9	0,27	0,32	0,31	0,34	0,017	ns	ns
C18:1 <i>trans</i> -10	0,22	0,25	0,29	0,30	0,032	ns	ns
C18:1 <i>trans</i> -11	2,64	2,69	2,99	2,95	0,174	ns	ns
C18:1 <i>trans</i> -12	0,32	0,38	0,45	0,44	0,033	0,030	ns
C18:1 <i>trans</i> 13 -14	0,30	0,40	0,36	0,36	0,051	ns	ns
C18:1 <i>cis</i> -9 + <i>trans</i> -15	20,52	23,62	23,30	25,05	1,085	0,0217	ns
C18:1 <i>cis</i> -11	1,30	1,46	1,61	1,54	0,079	ns	ns
C18:1 <i>cis</i> -12	0,35	0,45	0,48	0,50	0,044	0,02	ns
C18:1 <i>cis</i> -13	0,07	0,06	0,07	0,09	0,010	ns	ns
C18:1 <i>trans</i> -16	0,32	0,38	0,34	0,38	0,023	ns	ns
CLA <i>cis</i> -9 <i>trans</i> -12	0,10	0,08	0,06	0,07	0,009	0,007	ns
C18:2 <i>cis</i> -9 <i>cis</i> -12	1,54	3,42	4,36	5,27	0,487	<0,001	ns
C20:0	0,14	0,16	0,16	0,17	0,008	0,036	ns
C18:3 n-3 isômeros	0,11	0,14	0,12	0,11	0,005	ns	ns
C20:1 <i>cis</i> -11	0,04	0,04	0,04	0,05	0,002	0,013	ns

continua...

C18:3 α - linolênico	0,34	0,59	0,69	0,84	0,043	<0,001	ns
CLA <i>cis</i> -9 <i>trans</i> -11	1,15	1,16	1,24	1,22	0,103	ns	ns
CLA <i>trans</i> -9 <i>cis</i> -11	0,04	0,04	0,05	0,04	0,005	ns	ns
C21:0	0,03	0,02	0,03	0,03	0,003	ns	ns
CLA <i>trans</i> -10 <i>cis</i> -12	0,02	0,02	0,02	0,02	0,002	ns	ns
C20:2 <i>cis</i> -11 <i>cis</i> -14	0,02	0,03	0,03	0,03	0,004	ns	ns
C22:0	0,06	0,07	0,08	0,08	0,004	0,048	ns
C20:3 n-6	0,07	0,09	0,08	0,08	0,007	ns	ns
C20:4 n-6	0,11	0,14	0,11	0,10	0,009	ns	ns
C24:0	0,10	0,09	0,08	0,08	0,009	ns	ns
Delta CLA ⁵	0,44	0,43	0,42	0,42	0,017	ns	ns
Saturados totais	64,07	58,71	57,53	55,28	1,165	0,009	ns
Monoinsaturados totais	30,20	32,99	32,87	34,45	0,974	0,039	ns
Poli-insaturados totais	3,50	5,70	6,77	7,78	0,445	<0,001	ns

¹EPM = Erro-padrão da média; ²L = efeito linear; ³Q = efeito quadrático; ⁴ns = não-significativo (P>0,10);
⁵DeltaCLA = Atividade da enzima Delta-9-Dessaturase na formação dos isômeros de CLA.

Tabela 3- Consumos (kg/vaca/dia ou % do peso vivo - %PV) de matéria seca (MS), fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), proteína bruta (PB), carboidratos não fibrosos (CNF), extrato etéreo (EE) e ácidos graxos α -linolênico (C18:3 *cis*-9 *cis*-12 *cis*-15), linoleico (C18:2 *cis*-9 *cis*-12) e oleico (C18:1 *cis*-9) de vacas Holandês x Gir fistuladas no rúmen, lactantes, em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementada 0; 1,3; 2,6 ou 3,9 kg/vaca/dia de grão de soja tostado (GST) no concentrado

Parâmetro	Concentrados				EPM ¹	Valor de P	
	T0	T,3	T2,6	T3,9		L ²	Q ⁴
Consumo de MS							
total, kg	18,8	19,6	19,2	17,8	1,408	ns ⁴	ns
total, %PV	3,38	3,30	3,33	3,22	0,258	ns	ns
pasto, kg	13,7	14,4	14,1	12,7	1,408	ns	ns
pasto, %PV	2,41	2,49	2,51	2,26	0,252	ns	ns
concentrado, kg	5,06	5,14	5,09	5,16	0,011	ns	ns
concentrado, %PV	0,88	0,89	0,91	0,93	0,008	ns	ns
Consumo de FDN							
total, kg	10,4	11,0	10,9	9,80	0,981	ns	ns
total, %PV	1,87	1,84	1,89	1,78	0,178	ns	ns
pasto, kg	9,60	10,0	9,80	8,80	0,980	ns	ns
pasto, %PV	1,72	1,70	1,70	1,60	0,179	ns	ns
Consumo total de PB, CNF e EE							
PB, g	2.927,5	3.130,0	3.122,5	3.060,0	151,0	ns	ns
PB, %PV	0,52	0,53	0,54	0,49	0,027	ns	ns
CNF, g	3.222,5	3.187,5	2.800,0	2.367,5	71,32	<0,001	ns
CNF, %PV	0,58	0,54	0,49	0,43	0,011	<0,001	ns
EE, g	297,5	622,5	750,0	1.000,0	17,68	<0,001	ns
EE, %PV	0,05	0,11	0,13	0,18	0,003	<0,001	ns
Consumo total de ácidos graxos							
linolênico, g	74,5	101,7	110,9	121,3	7,113	<0,001	ns
linolênico, %PV	0,01	0,02	0,02	0,02	0,002	<0,001	ns
linoleico, g	89,9	265,5	235,9	481,0	3,241	<0,001	ns
linoleico, %PV	0,02	0,04	0,06	0,09	0,003	<0,001	ns
oleico, g	40,1	106,9	133,7	191,9	0,786	<0,001	ns
oleico, %PV	0,01	0,02	0,02	0,04	0,001	<0,001	ns

¹EPM = Erro-padrão da média ; ²L = efeito linear; ³Q = efeito quadrático; ⁴ns = não-significativo (P>0,05).