

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Elizeu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



Dissertação

Fontes lipídicas suplementares em dietas para vacas no terço inicial de lactação

Ana Paula Binato de Souza

Pelotas, 2015

Ana Paula Binato de Souza

Fontes lipídicas suplementares em dietas para vacas no terço inicial de lactação

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências, na área de concentração: Produção e Nutrição de Ruminantes.

Orientador: Dr. Jorge Schafhäuser Junior
Co-orientadores: Dr. José Laerte Nörnberg
Dr. Jamir Luís Silva da Silva

Pelotas - 2015

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S719f Souza, Ana Paula Binato de

Fontes lipídicas suplementares em dietas para vacas no terço inicial de lactação / Ana Paula Binato de Souza ; Jorge Schafhäuser Junior, orientador ; José Laerte Nörnberg, Jamir Luís Silva da Silva, coorientadores. — Pelotas, 2015.

95 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2015.

1. Balanço energético. 2. Fonte de gordura. 3. Consumo. 4. Naturalmente protegida. 5. Energia. I. Schafhäuser Junior, Jorge, orient. II. Nörnberg, José Laerte, coorient. III. Silva, Jamir Luís Silva da, coorient. IV. Título.

CDD : 636.2

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Ana Paula Binato de Souza

Fontes lipídicas suplementares em dietas para vacas no terço inicial de lactação

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 24 de fevereiro de 2015.

Banca examinadora

Prof. Dr. Jorge Schafhäuser Junior (Presidente) – Embrapa Clima Temperado

Prof.^a Dr.^a Ione Maria Pereira Haygert Velho – Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Rogério Fôlha Bermudes – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Ricardo Zambarda Vaz – Universidade Federal de Pelotas

Prof.^a Dr.^a Isabella Dias Barbosa Silveira (1º Suplente) – Universidade Federal de Pelotas

Dr. Jamir Luiz Silva da Silva (2º Suplente) - Embrapa Clima Temperado

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela vida e por iluminar sempre meu caminho.

À minha família, em especial aos meus pais Maria Cecy e Hugo de Souza, e minha irmã Mariana pelo exemplo, amor, força e compreensão. Pelo apoio e incentivo, por acreditar no meu potencial e investir sempre nele, pela educação; ou simplesmente por serem meus pais, me dando o carinho e amor. Amor incondicional...

Ao meu noivo, Mairo Ferreira, por todo amor e pelo companheirismo, obrigada por estar sempre ao meu lado, estendendo-me a mão e me instigando a sempre querer mais, te amo.

Agradeço ao meu querido orientador, Prof. Dr. Jorge Schafhauser Junior pela oportunidade em fazer parte do seu grupo de pesquisa, pela confiança, ensinamentos, orientação e assim compartilhar da sua sabedoria e experiência.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), professores e principalmente colegas que fizeram parte da turma de mestrado, pelas oportunidades e experiências.

Aos amigos do Laboratório de Bromatologia da Embrapa Clima Temperado meu muitíssimo obrigado por toda a ajuda e conhecimento que me foi transmitido, pelo companheirismo, risadas, mateadas e também discussões, afinal, tudo é ensinamento. Mas é claro que não poderia deixar de agradecer pessoas que foram essenciais para que esse estudo acontecesse, que são “FábioRudolf,” parece ser um só, mas são dois grandes amigos os quais foram meus professores ao longo deste trabalho, e que hoje me faltaria palavras para agradecer tudo que fizeram por mim, muito obrigada.

Aos meus familiares e amigos que contribuíram com palavras de conforto e ânimo e aqueles que de uma forma ou de outra, auxiliaram para a realização deste trabalho, meu **MUITO OBRIGADO**.

*“Talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor,
mas lutamos para que o melhor fosse feito.*

*Não somos o que deveríamos ser,
não somos o que iremos ser,
mas, Graças à Deus,
não somos o que éramos antes.”*

Martin Luther King

RESUMO

SOUZA. Ana Paula Binato. **Fontes lipídicas suplementares em dietas para vacas no terço inicial de lactação.** 2015. 95f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas – RS.

O trabalho avaliou o efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas em lactação quanto a produção de leite, eficiência alimentar, consumo, digestibilidade e perfil metabólico hepático. Foram utilizadas oito vacas da raça Jersey distribuídas em dois quadrados latinos, mantidas em confinamento, em galpão *freestall*. Foram utilizadas quatro dietas, com diferentes fontes de gordura: Megalac®, Linhaça, Girassol e Soja, em dietas formuladas para serem isoenergéticas, isoproteicas e isofibrosas. As dietas continham 5,8% de extrato etéreo na MS. O volumoso consistiu de silagem de milho, ofertado à vontade. O concentrado foi constituído à base de grão de milho moído, farelo de soja, farelo de trigo e sal mineral. O delineamento experimental utilizado foi duplo quadrado latino 4x4, com quatro períodos experimentais de 14 dias. As variáveis analisadas foram submetidas à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Não foram observadas diferenças ($P>0.05$) no consumo de MS, MO, PB, EE, FDN, CNF e NEI, devido a uniformidade dos nutrientes que compunham a dieta. O coeficiente de digestibilidade aparente da PB foi inferior para o tratamento Soja ($P=0.0002$) devido a menor inclusão de farelo de soja que compunha a dieta. A digestibilidade do EE foi superior para tratamento Megalac® ($P=0.0001$), para as demais frações nutrientes não foram observados efeitos. A produção de leite foi maior no tratamento Megalac®, não diferindo do tratamento Linhaça, sendo esse igual aos demais tratamentos, Girassol e Soja. Quando a produção de leite foi corrigida para energia estas diferenças não foram observadas. As fontes utilizadas não afetaram a eficiência alimentar, eficiência corrigida, o balanço energético e o perfil metabólico sanguíneo dos animais em estudo. Desta maneira os grãos de oleaginosas testadas podem ser utilizadas como fonte de gordura para animais no início de lactação sem que haja efeitos prejudiciais aos animais e são capazes de substituir os sais de cálcio de ácidos graxos.

Palavras-chave: Balanço energético, consumo, energia, fonte de gordura, naturalmente protegida, produção de leite.

ABSTRACT

SOUZA. Ana Paula Binato. **Supplementary lipid sources in diets for cows in the first third of lactation.** 2015. 95f. Thesis (Master of Science) – Graduate Program in Animal Science, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2014.

This study evaluated the effect of different fat sources in the diet of dairy cows as milk production, feed efficiency, feed intake, digestibility and hepatic metabolic profile. Eight Jersey cows were assigned in two Latin squares, housed in free stall barn. Four diets were used, with different fat sources: Megalac®, Linseed, Sunflower and Soybean in diets formulated to be isocaloric, isonitrogenous and isofibrous. The diets were contained 5.8% ether extract of DM. The forage consisted of corn silage, offered ad libitum. The concentrate was constituted of corn meal, soybean meal, wheat bran and mineral salt. The experimental design was 4x4 Latin square double, with four periods of 14 days each. The variables analyzed were submitted to ANOVA and means compared by Tukey test. There were no differences ($p > 0.05$) to the DM, OM, CP, EE, NDF, NFC and Nel, because the uniformity of the nutrients that made up the diet. The apparent digestibility of CP was lower for the treatment Soy ($P = 0.0002$) due to decreased level of soybean meal that made up the diet. The digestibility of EE was higher for Megalac treatment ($P = 0.0001$) for the other nutrients fractions no effects were observed. Milk production was higher in the treatment Megalac®, not differing from Flaxseed treatment, and this equal to other treatments, sunflower and soybean. When milk production was corrected to energy these differences were not observed. The sources used did not affect the EB and blood metabolic profile of the animals were studied. Thus the tested oilseeds can be used as a source of fat for the beginning of the lactation animals without detrimental effects to animals and even replace calcium salts of fatty acids.

Keywords: Energy balance, feed efficiency, energy, fat source, metabolic profile, milk production.

Lista de Tabelas

Tabela 1	Composição bromatológica dos ingredientes utilizados nas dietas._____	76
Tabela 2	Participação dos ingredientes nas dietas consumidas._____	77
Tabela 3	Composição bromatológica das dietas consumidas._____	78
Tabela 4	Consumo de matéria seca (CMS) matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra insolúvel em detergente neutro (CFDN), carboidratos não fibrosos (CCNF), matéria mineral (CMM), cálcio (CCa), consumo de energia líquida (CNEI), e relações dos consumos de MS, MO e FDN com o peso vivo dos animais (MS PV), (MO PV) e (FDN PV)._____	79
Tabela 5	Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), proteína bruta (DPB), extrato etéreo (DEE), fibra insolúvel em detergente neutro (DFDN) e carboidratos não fibrosos (DCNF)._____	80
Tabela 6	Efeito de diferentes fontes de gordura na produção de leite (PL), Produção de leite corrigida para energia (PLCE), eficiência alimentar (EA), eficiência alimentar corrigida para energia (EACE) e balanço energético._____	81
Tabela 7	Componentes metabólicos sanguíneos._____	82

Lista de Abreviaturas e Siglas

MS - matéria seca;

MO - matéria orgânica;

PB - proteína bruta;

FDN - fibra insolúvel em detergente neutro com uso de alfa amilase termoestável;

EE - extrato etéreo;

FDA - fibra insolúvel em detergente ácido;

Ca - Cálcio;

Cr - Cromo;

LDA - lignina em detergente ácido;

MM - matéria mineral;

PV - peso vivo;

VLDL - lipoproteína de muito baixa densidade;

EA - eficiência alimentar;

CDA - coeficiente de digestibilidade aparente;

DMS - digestibilidade da matéria seca;

CMS - consumo de matéria seca;

DMO - digestibilidade da matéria orgânica;

CMO - consumo de matéria orgânica;

DEE - digestibilidade do extrato etéreo;

CEE - consumo de extrato etéreo;

DPB - digestibilidade da proteína bruta;

CPB - consumo de proteína bruta;

CFDN - consumo de fibra insolúvel em detergente neutro,

DFDN - digestibilidade da fibra insolúvel em detergente neutro,

CNF - carboidratos não fibrosos;

DCNF - digestibilidade dos carboidratos não fibrosos;

NDT - nutrientes digestíveis totais;

CNDT - consumo de nutrientes digestíveis totais;

ED - energia digestível;

EM - energia metabolizável;

ELI - energia líquida de lactação;

AST – Aspartatoaminotransferase;

GGT – Gama Glutamiltransferase;

AG – ácido graxo;

CLA – ácido linoléico conjugado;

BEN – balanço energético negativo;

AGV – ácido graxo volátil;

MPS – matéria parcialmente seca;

PFT – produção fecal total;

Sumário

1. Introdução	13
2. Revisão de literatura	15
2.1. Gordura na alimentação de bovinos leiteiros	15
2.2. Metabolismo ruminal das gorduras	16
2.2.1. Hidrólise	17
2.2.2. Biohidrogenação	17
2.3. Utilização de gordura inerte no rúmen	20
2.3.1. Gordura protegida: sais de cálcio de ácidos graxos	21
2.3.2. Fonte de gorduras naturalmente protegidas	23
2.3.2.1. Soja	25
2.3.2.2. Girassol	25
2.3.2.3. Linhaça	26
2.4. Efeitos da suplementação com gordura naturalmente protegida.	27
2.4.1. Consumo e digestibilidade	27
2.4.2. Produção e composição de leite	30
3. Projeto de pesquisa	35
1. Caracterização do problema	36
2. Objetivos e metas	38
3. Metodologia	38
4. Resultados e impactos esperados	41
5. Cronograma do projeto	42
6. Outros projetos e financiamentos	42
7. Aspectos éticos	43
8. Referências bibliográficas	43
4. Relatório do trabalho de campo	45
4.1. Local e instalações	45
4.2. Animais experimentais	45
4.3. Tratamentos	45
4.4. Delineamento experimental	46
4.5. Duração do experimento e períodos experimentais	46

4.6. Condução do experimento _____	46
4.7. Preparo de amostras _____	48
4.8. Análises e avaliações laboratoriais _____	50
5. Artigo 1 _____	53
1. Introdução _____	56
2. Material e métodos _____	57
2.1. Animais e localização _____	57
2.2. Tratamentos e dietas experimentais _____	58
2.3. Manejo experimental _____	58
2.4. Avaliações _____	59
2.5. Delineamento experimental e análises estatísticas _____	61
3. Resultados _____	62
4. Discussão _____	63
4.1. Consumo _____	63
4.2. Digestibilidade aparente _____	65
4.1. Produção de leite, eficiência alimentar e balanço energético _____	66
4.2. Perfil bioquímico _____	68
5. Conclusões _____	71
6. Agradecimentos _____	71
7. Referências bibliográficas _____	71
6. Referências bibliográficas _____	83

1. Introdução

A evolução genética dos rebanhos leiteiros e das técnicas de manejo, ao longo dos anos, tem propiciado o aparecimento de situações onde os animais expressam cada vez mais seu potencial produtivo. Esse avanço na produção individual de leite foi determinante para que a maioria dos rebanhos de leite saudáveis e de elevado valor genético, ao início da lactação, passem por um longo período de Balanço Energético Negativo (BEN), mesmo sendo ofertadas dietas de alta energia.

Vacas em BEN mobilizam suas reservas corporais (lipídicas e proteicas) a fim de atender a demanda energética nesse período, com conseqüentes mudanças na sua condição corporal. Esse fato é responsável por diminuir o desempenho produtivo e reprodutivo no pós-parto, aumentar a incidência de transtornos metabólicos e susceptibilidade a doenças em vacas de leite (WILDMAN et al., 1982; RUEGG & MILTON, 1995).

A principal limitação tratando-se de animais de elevado mérito genético é a diferença entre a demanda de nutrientes para a produção leiteira e a capacidade ingestiva do animal, o que torna necessária a utilização das reservas corporais para manter seu potencial genético de produção. Como estratégia para minimizar estes efeitos, gorduras têm sido utilizadas na alimentação animal, visando elevar a densidade energética das dietas a fim de minimizar o BEN sem prejuízos ao metabolismo dos animais, bem como para modificar o perfil de ácidos graxos da gordura do leite, reduzindo a participação de ácidos graxos saturados e de cadeia curta, e aumentando a de ácidos graxos insaturados (GRIINARI et al., 2004; ONETTI & GRUMMER, 2004). Fontes de gordura capazes de serem utilizadas como componente energético das dietas de vacas leiteiras são variadas e numerosas, podendo ser classificadas nutricionalmente em dois grandes grupos: as prontamente disponíveis no rúmen (gorduras livres), e as gorduras rúmen-inertes ou *by pass* (sobrepassantes) podendo estas ser protegidas artificialmente na forma de sais de cálcio de ácidos graxos, ou provir de fontes potencialmente protegidas como nas sementes oleaginosas (NÖRNBERG, 2003).

Objetivou-se avaliar a inclusão de diferentes fontes de gordura, protegida e/ou naturalmente protegida, na dieta de vacas Jersey em lactação, sobre, o consumo e

digestibilidade aparente de nutrientes, perfil metabólico sanguíneo, produção de leite e eficiência alimentar.

2. Revisão de literatura

2.1. Gordura na alimentação de bovinos leiteiros

A suplementação lipídica destaca-se por apresentar vantagens principalmente devido à gordura possuir 2,25 vezes mais energia por unidade de massa do que os carboidratos, além de, segundo Coppock & Wilks (1991), os ácidos graxos de cadeia longa (C16 a C22) serem utilizados com maior eficiência pelo animal. Isso porque a transferência direta de ácidos graxos da dieta para os tecidos e/ou produtos animais pode ocorrer com menor perda energética promovendo economia de alguns passos metabólicos da conversão quando comparado aos carboidratos. Por exemplo, sua conversão a ácidos graxos voláteis (AGV) e destes até ácidos graxos de cadeia mais longa tem em cada etapa uma perda de energia nas reações químicas (GRUMMER, 1995).

Para otimizar os resultados com a utilização de gordura na dieta de ruminantes, é preciso considerar que, para vacas em lactação o uso pode promover respostas variáveis na produção e composição do leite, sendo que a resposta à suplementação depende da dieta basal fornecida (especialmente o volumoso), estágio de lactação, balanço energético, composição e quantidade da fonte de gordura utilizada (ONETTI & GRUMMER, 2004).

Os tipos de lipídeos empregados influenciam nas respostas à sua utilização, em que podem alterar a fermentação e a digestibilidade ruminal da fibra, interferindo na atividade das bactérias celulolíticas e metanogênicas. Os lipídeos saturados comportam-se de forma menos prejudicial à flora microbiana do que as gorduras insaturadas, porém as gorduras insaturadas tem efeito hipocolesterolêmico o que a torna desejável na composição do leite para a saúde humana (PALMQUIST & JENKINS, 1980; CHALUPA et al., 1984; VAN SOEST, 1994).

Bauman et al. (2006) justificam o interesse do uso de gordura nas rações de vacas leiteiras por duas principais razões: 1) Efeitos positivos sobre a produção de leite, manutenção da saúde e o aumento da produtividade no sistema; e 2) mudanças na composição do leite, pois é demonstrado pela pesquisa que ácidos graxos em produtos advindos de ruminantes apresentam especificidade e potenciais

efeitos nutracêuticos pela presença do ácido graxo linoleico conjugado (CLA), trazendo benefícios a saúde humana.

2.2. Metabolismo Ruminal das Gorduras

De acordo com Palmquist et al. (1993), a quantidade de lipídio dietético transformado diretamente em gordura do leite é influenciado por três fatores: lipólise e biohidrogenação ruminal, absorção intestinal e a relação entre estoque e mobilização de lipídeos nos tecidos adiposos.

Os mais importantes constituintes dos lipídeos na nutrição animal incluem, glicerol; ácidos graxos mono-, di- e triglicerídeos (ésteres de glicerol e ácidos graxos) e fosfolipídios.

Os lipídios podem ser agrupados em lipídios de reserva (principalmente triglicerídeos em sementes), lipídios de membranas (galactolipídios e fosfolipídios) e em uma mistura heterogênea de outras estruturas moleculares solúveis em éter (ceras, carotenoides, clorofila, etc.).

Os lipídios presentes nas plantas são representados, principalmente, por galactolipídios e fosfolipídios, enquanto a gordura animal, e aquela presente nos grãos de cereais e oleaginosas são basicamente triglicerídeos (KOZLOSKI, 2012; PALMQUIST, 1996).

Kozloski (2012) relata que a maior parte dos ácidos graxos (AG) de origem vegetal é insaturada, geralmente mais de 70%. Nos cereais e na maioria das sementes oleaginosas há predominância de ácido linoleico (C18:2 n-6), enquanto em forragens o ácido mais comum seja o α -linolênico (C18:3 n-3). Algumas exceções importantes incluem o óleo de palma (alto teor de ácido palmítico – C16:0), óleo de canola (alto teor de ácido oléico – C18:1 n-9) e o óleo de linhaça (alto teor de ácido α -linolênico – C18:3 n-3) (PALMQUIST & MATTOS, 2006).

Os ácidos graxos presentes na dieta não contribuem como fonte de energia para a microbiota ruminal. Além disso, a presença de ácidos graxos livres no ambiente ruminal, principalmente AG insaturados, pode acarretar efeitos deletérios ao ambiente ruminal como recobrimento das partículas de alimento e de células

microbianas, dificultando com isso a adesão destas e, conseqüentemente, prejudicando a fermentação dos alimentos. Por conseguinte, a maior parte dos lipídeos que chegam ao rúmen é transformada por ação da microbiota, através de dois processos que se seguem: hidrólise e biohidrogenação, respectivamente.

2.2.1. Hidrólise

A hidrólise das ligações ésteres é o primeiro processo que ocorre quando a gordura da dieta chega ao rúmen. Os lipídios são então hidrolisados pelas lipases, galactosidases e fosfolipases microbianas liberando ácidos graxos livres, galactose e glicerol. O glicerol é fermentado rapidamente, produzindo propionato (ácido graxo volátil – AGV) como produto final (Jenkins, 1993), assim como a galactose (STAPLES, 2000).

A hidrólise dos lipídios pode ser diminuída quando o nível de gordura da dieta é aumentado ou quando fatores como baixo pH ruminal, principalmente por dietas com alta inclusão de concentrado rico em amido (dietas acidogênicas), ou por ação de antibióticos ionóforos que inibem a atividade e o crescimento de determinados gêneros de bactérias ruminais (DOREAU et al., 1997; HARFOOT & HAZLEWOOD, 1997).

Como nos alimentos, os lipídeos encontram-se, em sua maioria, na forma esterificada como triglicerídeos e galactolipídios (ácidos graxos ligados a uma molécula glicídica), e as bactérias responsáveis pela biohidrogenação atuam exclusivamente sobre ácidos graxos livres, a hidrólise é um pré-requisito para a biohidrogenação.

2.2.2. Biohidrogenação

A atuação nos compartimentos fermentativos pelos microrganismos ruminais modifica a natureza lipídica da dieta, transformando os ácidos graxos insaturados em saturados, através do processo de biohidrogenação.

Considerando o efeito tóxico de ácidos graxos insaturados sobre os microrganismos ruminais, um mecanismo de defesa para redução desta toxidez é a

provável razão para o desenvolvimento da capacidade de biohidrogenação pela microbiota ruminal (PALMQUIST & MATTOS, 2006).

A biohidrogenação visa diminuir as duplas ligações existentes na cadeia carbonada dos ácidos graxos insaturados pela adição de íons hidrogênio.

Os ácidos graxos insaturados apresentam alta capacidade reativa com as membranas celulares bacterianas, processo que resulta normalmente em perda da natureza bifásica da membrana celular bacteriana, levando a morte microbiana. Além disso, a biohidrogenação contribui para retirada dos íons hidrogênio (H^+) do ambiente ruminal, evitando seu acúmulo; reduz também a produção de metano (CH_4) pelas bactérias metanogênicas, uma vez que consome íons H^+ , aumentando com isso, a eficiência energética da dieta (COSTA, 2008).

Segundo Chalupa et al. (1986) os lipídios insaturados estimulam as bactérias ruminais produtoras de propionato, causando decréscimo na proporção acetato:propionato e na produção de metano, agindo de maneira similar aos ionóforos.

Os microrganismos mais susceptíveis aos efeitos do acúmulo de ácidos graxos poli insaturados são bactérias gram positivas, metanogênicas e os protozoários (MACHMÜLLER & KREUZER, 1999).

Os ácidos graxos insaturados encontrados na gordura vegetal e a maioria das gorduras animais apresentam configuração isomérica *cis* (Staples, 2000), no entanto, além da adição de íons hidrogênio, durante a biohidrogenação, pela ação de isomerases, algumas duplas ligações dos ácidos graxos de origem vegetal na forma *cis* são convertidas a forma *trans*.

Ao longo do processo de biohidrogenação, isomerases e redutases convertem os ácidos linoleico (18:2) e linolênico (18:3) a esteárico (18:0), com formação de diversos intermediários (KOZLOSKI, 2012). Entre estes, destacam-se os compostos denominados CLA (ácido linoleico conjugado) que, segundo Dhimanet et al. (2000), são isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico, contendo duplas ligações conjugadas. Tais ligações geralmente se encontram nas posições 9 e 11 ou 10 e 12, com configuração *cis* ou *trans*.

A biohidrogenação é realizada por dois grupos distintos de bactérias. O primeiro é responsável pela biohidrogenação do ácido linoleico (C18:2) e ácido linolênico (C18:3) a ácido transvacênico (trans-11 C18:1) e as bactérias do segundo grupo são capazes de biohidrogenar uma grande extensão de *cis* e *trans* C18:1 a ácido esteárico (C18:0) (DEMEYER & DOREAU, 1999).

Em algumas situações dietéticas a biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos da dieta é incompleta, acarretando na passagem de diversos isômeros posicionais de ácido linoleico e linolênico para o intestino delgado, onde serão absorvidos, sendo transportados até a glândula mamária e incorporados na gordura do leite ou ao tecido adiposo corporal, alterando seu perfil de ácidos graxos. Essas situações incluem a grande oferta de concentrado na dieta, com conseqüente redução do pH ruminal, onde as taxas de lipólise e biohidrogenação serão menores, o que resulta num maior escape de ácidos graxos insaturados e isômeros posicionais de ácido linoleico e linolênico do rúmen-retículo, chegando intactos ao abomaso e intestino delgado.

A velocidade de passagem da digesta pelos pré-estômagos é capaz de afetar a taxa de biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados e, conseqüentemente, aumentar a chegada de produtos intermediários da biohidrogenação no intestino delgado. Coppock & Wilks (1991) afirmam quanto ao nível de consumo de matéria seca que, animais consumindo 4 % ou mais de matéria seca em relação ao peso vivo, em função da maior taxa de passagem da digesta e, portanto, menor tempo de permanência no rúmen, possibilita aos ácidos graxos da dieta e produtos intermediários da biohidrogenação destes chegar mais rapidamente e intactos ao intestino delgado. O mesmo ocorre em dietas em que são utilizados alimentos volumosos de alta qualidade, mas de baixa efetividade da fração fibrosa (alimentos muito picados), diminuindo com isso a atividade de ruminação e aumentando a taxa de passagem. A extensão da lipólise é dependente também da quantidade de gordura adicionada à dieta e da natureza lipídica dessa gordura, sendo que óleos vegetais, como o de linhaça e girassol são quase que completamente hidrolisados (em torno de 90%) enquanto que óleo de peixe, por exemplo, tende a ser menos hidrolisado (em torno de 50 %) (CHURCH, 1988).

Embora o ácido esteárico (C18:0) seja o principal produto final da biohidrogenação ruminal de ácidos graxos insaturados, existem certas condições que afetam a biohidrogenação. Em dietas suplementadas com óleo de peixe (Wachira et al. 2002; Shingfield et al., 2003), foi observada a inibição do último passo da biohidrogenação, levando ao acúmulo de ácidos graxos *trans* C18:1. Condições nas quais se reduz o pH ruminal, como no caso de dietas ricas em concentrado, ou dietas com inclusão de ionóforos, também podem levar a inibir o último passo da biohidrogenação (VAN NEVEL & DEMEYER, 1995).

O resultado final da biohidrogenação dos ácidos linoleico e linolênico é a formação de ácido esteárico. Durante este processo formam-se, como produtos intermediários, ácidos graxos conjugados, principalmente o *cis*-9, *trans*-11 C18:2 Ácido Linoleico Conjugado (CLA), também denominado Ácido Rumênico, bem como ácidos graxos monoinsaturados com a dupla ligação com configuração *trans*, principalmente Ácido Vacênico *trans*-11 C18:1.

Modificações na dieta tradicional de bovinos, principalmente pela adição de fontes lipídicas ricas em ácidos graxos insaturados (óleos vegetais, por exemplo), são capazes de aumentar a proporção destes ácidos no perfil de ácidos graxos da carne e do leite, agregando a estes alimentos substâncias de reconhecido valor nutracêutico como o Ácido Linoleico Conjugado (CLA). Além disso, diversas pesquisas demonstraram a eficácia de alguns ácidos graxos do grupo *trans* em diminuir a produção de gordura do leite (BAUMAN & GRIINARI, 2001; STAPLES, 2006; BAUMAN et. al., 2011).

Assim, vários trabalhos têm sido realizados para estudar a quantidade e o tipo de gordura a ser adicionada a dieta de bovinos, sua aceitabilidade e digestibilidade com a finalidade de elevar os conteúdos de CLA e medir os efeitos de ácidos *trans* na gordura do leite.

2.3. Utilização de gordura inerte no rúmen

O termo gordura inerte no rúmen refere-se à redução do efeito negativo que certos lipídeos exercem sobre o metabolismo de protozoários e bactérias no rúmen

(Smith, 1990), onde o grau de proteção dos lipídeos deve ser suficiente para minimizar possíveis efeitos sobre a atividade ruminal (ASHES et al., 1997).

2.3.1. Gordura protegida: sais de cálcio de ácidos graxos

As gorduras protegidas foram desenvolvidas com a intenção de melhorar o aporte energético de vacas em início da lactação sem, no entanto, extrapolar os limites de fornecimento de gordura livre no rúmen. Os primeiros sais cálcicos ricos em ácidos graxos poli-insaturados produzidos no mundo eram associações de ácidos graxos de palma com diferentes fontes de ácidos graxos (soja, óleo de peixe, etc). No Brasil, como não havia disponibilidade de ácido graxo de palma, e era inviável a importação (do óleo ou da gordura protegida de palma), a indústria desenvolveu produtos que contivessem 100% de ácidos graxos do óleo de soja, poli-insaturados, mas com alto teor de ácidos graxos essenciais (NETO et al. 2012).

Existem no mercado sais de cálcio de ácidos graxos formados a partir de óleo de palma, colza e soja, sendo que os dois últimos são mais insaturados, mais dissociados e mais susceptíveis à biohidrogenação parcial no rúmen (FREITAS JÚNIOR, 2008).

A gordura protegida consiste em uma fonte de ácidos graxos insaturados, em geral produzidos a partir de gorduras de origem vegetal, que ao serem ingeridas pelo ruminante é pouco utilizada pelos microrganismos do rúmen, e apresentam pouca ou nenhuma interferência na degradação de outros componentes da dieta, sendo solubilizadas e digeridas a partir do abomaso e absorvidas no intestino delgado, o que leva a um maior aproveitamento pelo animal, além de diminuir o efeito negativo da gordura sobre o ambiente ruminal e conseqüentemente sobre a degradabilidade da fibra (MULLER et al., 2005).

Os sais, ou sabões de cálcio são obtidos a partir de ácidos graxos de cadeia longa que ficam livres num processo de cisão dos triglicérides de óleos vegetais. Esses ácidos graxos reagem com sais de cálcio, unidos na forma de um sal do tipo R-COO-Ca, popularmente conhecido como sabão de cálcio. Os sabões de cálcio, por serem altamente estáveis em água e temperatura, somente são digeridos no organismo animal em meio ácido. No rúmen, o meio é ligeiramente ácido (pH = 6,2),

o que faz com que ele permaneça parcialmente inalterado diminuindo a liberação de ácidos graxos no rúmen. Ao chegar ao abomaso, o meio torna-se extremamente ácido (pH = 2-3) ocorrendo o desdobramento do sabão de cálcio, com a liberação para o intestino dos ácidos graxos e íons de cálcio, que são absorvidos. Para que esse processo ocorra, a gordura “by pass” (protegida), como também é denominada, deve estar protegida pela saponificação. Quanto menor o teor de ácidos graxos livres (não saponificados), maior será a proteção.

A gordura protegida é composta por ácidos graxos essenciais, linolênico e linoleico. Estes apresentam cadeia carbônica longa, sendo o linoleico formado por 18 carbonos com duas ligações duplas (18:2) e o linolênico formado por 18 carbonos e com três ligações duplas (18:3) (THEURER, 2002). As concentrações dos ácidos linoleico e linolênico na gordura protegida são de aproximadamente 42% e 3% respectivamente.

Os sabões de cálcio ou gordura protegida apresentam aproximadamente 6,52 Mcal/kg de energia, o que corresponde a um valor três vezes maior que a energia do milho, fato que explica a utilização deste insumo ser feita em níveis baixos e de forma estratégica (FRANCO, 2007).

Van Soest (1994) cita que com o uso da gordura protegida, o ruminante absorve maior quantidade de lipídios o que aumenta a produção, entretanto com a maior absorção de ácidos graxos insaturados de cadeia longa ocorre modificação na composição da gordura do leite.

Considerando os inúmeros benefícios da suplementação de gordura para vacas em lactação, alguns fatores devem ser considerados para que se tenha sucesso com a suplementação de gordura. Entre esses fatores o período, adaptação e a aceitabilidade da fonte de gordura podem ser considerados fatores determinantes para que se tenha resposta de desempenho adequada dos animais. Allen (2000), em ampla revisão de literatura avaliou estudos que observaram o consumo de matéria seca de diferentes fontes de gordura comumente utilizadas nas rações de vacas leiteiras. Este autor observou que de 24 experimentos utilizando os sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma como fonte de gordura, 11 demonstraram como resultado redução do consumo de matéria seca. Esses

resultados podem ser atribuídos à questão da aceitabilidade dessa fonte de gordura, por apresentar baixa palatabilidade, levando dessa forma ao baixo consumo encontrado.

Andersen et al. (2008) e Cerri et al. (2009) avaliaram vacas da raça holandês com suplemento comercial de ácidos graxos de óleo de palma e óleo de soja com dietas de 8,0 % e 5,5 % de EE na matéria seca total, respectivamente, para as rações com fonte de gordura. Estes autores não observaram redução significativa do consumo de matéria seca das dietas.

A inclusão de sais de cálcio de ácidos graxos em rações de vacas leiteiras pode ser considerada uma boa alternativa como fonte de gordura, na tentativa de suprir a demanda energética de vacas leiteiras no início de lactação. Entretanto, por ser uma fonte relativamente onerosa para a cadeia do leite em razão do aumento no custo dos insumos e da redução das margens de lucro da atividade leiteira, têm sido estudadas outras fontes lipídicas interessantes do ponto de vista econômico que amenizem o balanço energético negativo da fase inicial da lactação e que possuam pouco impacto sobre o metabolismo do rúmen (NÖRNBERG, 2003).

No trabalho conduzido por Vilela et al. (2002) o fornecimento de uma fonte comercial de gordura protegida, no terço inicial da lactação proporcionou um aumento significativo na produção de leite por vaca e a produção de leite por hectare, porém não se mostrou viável economicamente, já que o custo da energia extra fornecida aos animais superou o valor a ser recebido pelo incremento produtivo gerado pela suplementação com este insumo.

2.3.2. Fonte de gorduras naturalmente protegidas

Vacas leiteiras com produção acima de 10.000 kg/lactação demandam suplementação com alimentos mais energéticos, e os níveis normais de 3 a 4% de gordura bruta das dietas poderiam ser elevados até cerca de 8% com o uso de gorduras vegetais e/ou animais e produtos especiais, como as gorduras ruminalmente inertes (MÜHLBACH, 2000),

As gorduras naturalmente protegidas são fontes lipídicas fornecidas aos ruminantes sem quaisquer tratamentos químicos, térmicos ou outros. Os grãos

oleaginosos como caroço de algodão, linhaça, girassol, canola e soja são os principais representantes desta fonte lipídica, quando fornecidos na sua forma inteira. A gordura presente nestes grãos pode ser considerada rúmen inerte, com pouco ou nenhum efeito negativo sobre a digestibilidade dos outros componentes da dieta (ALLEN, 2000; PALMQUIST et al., 2006).

A proteção presente nestes grãos pode ser conferida por fatores como, a barreira física conferida pela casca que limita a atuação da microbiota ruminal e a dissolução rápida do conteúdo lipídico no bolo alimentar, diminuindo o efeito da hidrólise e biohidrogenação, levando a possível aumento da absorção a nível intestinal dos ácidos graxos poli insaturados e incorporação deste à gordura do leite.

Os grãos de oleaginosas quando fornecidos inteiros na dieta possuem rápida passagem pelo ambiente ruminal e dificuldade da ação das bactérias sobre as gorduras inseridas no grão, conseqüentemente há o aumento da gordura e da participação de ácidos graxos presentes nos grãos na gordura do leite (GLASSER et al., 2008).

Muitos dos grãos de oleaginosas fornecidas aos animais não passam intactos pelo ambiente ruminal sendo estes quebrados pela mastigação e ruminação. A quebra expõem a gordura à degradação e hidrólise, podendo ocorrer a biohidrogenação incompleta e portanto aumentar a concentração de ácido linoleico conjugado (CLA) no leite. Recentes estudos enfatizam os efeitos benéficos do CLA destacando suas propriedades nutracêuticas, como anticarcinogênica e redutora da aterosclerose.

As sementes de oleaginosas são muito utilizadas pela alta concentração energética e lipídica, e por apresentarem características interessantes com relação à lenta taxa de liberação do óleo, pois embora as gorduras insaturadas possam produzir distúrbios sobre o ambiente ruminal, o óleo contido nas sementes, como a soja, algodão, linhaça, girassol e canola, por ser liberado lentamente pode ser suplementado sem causar os mesmos distúrbios dos seus equivalentes na forma livre (COPPOCK & WILKS, 1991; MÜHLBACH et al., 2000).

2.3.2.1. Soja

A soja destaca-se entre os alimentos proteicos de origem vegetal como fonte alternativa de proteína e energia, sendo considerada semente de oleaginosa mais rica e disponível no mundo, podendo ser usada na alimentação dos ruminantes na sua forma original (crua) ou processada (CORRÊA, 2007). A composição da soja é caracterizada pelo elevado teor de proteína (40% da MS) e conteúdo lipídico (18% da MS) (VALADARES et al., 2006). O ácido graxo predominante na fração lipídica é o linoleico o que é interessante, uma vez que dependendo das transformações ruminais da dieta, sua presença pode ser transferida para o leite.

Entre as vantagens de uso do grão de soja como fonte de gordura pode ser citada a lenta liberação de lipídios no rúmen. Isso ocorre com os grãos de soja em função dos lipídios estarem inseridos no germe, portanto, há necessidade da degradação da parede celular para que a hidrólise ocorra.

Segundo Bateman e Clark (2000), a utilização do grão de soja nas rações de vacas leiteiras pode proporcionar aumentos na produção de leite maiores do que quando se utiliza quantidades semelhantes de farelo de soja na ração.

O grão de soja apresenta componentes antinutricionais, entre eles a sojina, presente na proteína da soja (RYAN, 1973). Esta tem influencia na palatabilidade da soja, o que pode interferir no consumo da dieta quando incluída em grandes quantidades. A sojina é classificada como termolábil, sendo inativada por tratamento do grão pelo calor, uma vez que, quando ativa pode provocar redução de crescimento e hipertrofia de pâncreas.

2.3.2.2. Girassol

O girassol é cada vez mais procurado, principalmente por produtores que buscam uma alternativa ao milho no período da safrinha (PINTO & FONTANA, 2001), apresentando-se como opção de rotação e sucessão de culturas nas regiões produtoras de grãos. Sua rusticidade e adaptabilidade a diferentes condições de clima e solos, aliados a suas características bromatológicas o tornam uma boa alternativa para reforçar a dieta do rebanho.

O grão de girassol apresenta teor elevado de lignina, fibra em detergente ácido (FDA) (16,73% da MS) e também grande quantidade de EE (45,41% da MS) (VALADARES et al., 2006).

O girassol apresenta uma matriz proteica (casca) rígida que envolve o grão, dessa forma, o fornecimento do grão inteiro apresenta-se como uma forma de proteção contra a biohidrogenação dos ácidos graxos poli-insaturados pelas bactérias ruminais. Quando quebrado ou moído os nutrientes do grão podem ser rapidamente degradado no rúmen e os ácidos graxos poli-insaturados são mais facilmente biohidrogenados.

Em virtude da alta quantidade de proteína solúvel presente no grão de girassol, o fornecimento de grãos inteiros pode ser interessante, principalmente com o objetivo de promover uma degradação mais lenta deste componente nutritivo no interior do rúmen e promover maior disponibilidade de proteína verdadeira no intestino.

O uso de grãos de girassol ou de seu óleo na alimentação de ruminantes se justifica, uma vez que os produtos (leite ou carne) oriundos destes animais apresentam elevação nos teores de ômega 6 e CLA, componentes são extremamente benéficos a saúde humana.

O girassol apresenta altos níveis de ácido clorogênico, um composto que inibe a atividade das enzimas digestivas. McGuffey e Schingoethe (1982) avaliaram o potencial do uso da semente de girassol para vacas leiteiras de alta produção e propuseram uma recomendação prática de limitação de semente de girassol de 10% da matéria seca da ração ou 20 a 25% do concentrado, recomendações essas que não afetaram adversamente a produção de leite.

2.3.2.3. Linhaça

A linhaça é uma das oleaginosas cujo óleo é rico em ácido graxo ômega-3 (53% do total de ácidos graxos) (NRC, 2001), apresenta 32% de gordura com 60% dos ácidos graxos considerados poli insaturados e ainda é rica em lignanas, que são fortes antioxidantes. Dietas ricas em ácidos graxos ômega-3 e antioxidantes são conhecidos por ter efeitos benéficos sobre a saúde humana. A linhaça tem atraído a

atenção como um suplemento lipídico para gado leiteiro devido à sua elevada concentração de ácido linolénico, um ácido graxo essencial que não é sintetizado por mamíferos. A gordura presente está associada à matriz proteico-fibrosa do grão (Petit, 2002) e quando ácidos graxos estão associados às estruturas celulares dos alimentos há uma incompleta disponibilidade dos mesmos dificultando a digestibilidade do EE e da PB (BAUCHART, 1993). A linhaça fornecida na forma de grão estaria protegida da biohidrogenação ruminal, podendo ser inserida na dieta de vacas leiteiras objetivando um aumento deste ácido graxo no leite (CAVALIERI, 2003).

Em geral, a linhaça inteira, não tratada, é prontamente aceita por vacas leiteiras, em inclusão de até 15% de matéria seca total da dieta, não interferindo no consumo e produção de vacas leiteiras (PETIT, 2002; SECCHIARI et al., 2003; MARTIN et al., 2008).

A linhaça possui um componente anti nutricional na sua composição que são os glicosídeos cianogênicos. A hidrólise deste componente presente na semente da linhaça produz ácido cianídrico que possui efeitos tóxicos aos animais (FENG et al., 2003). De acordo com Conn (1979), as doses letais do ácido cianídrico em bovinos são 2,0 mg/kg de peso vivo. A alimentação com 10% de linhaça na dieta de vacas leiteiras e com concentração média de 0,16 g de ácido cianídrico, por quilograma de semente (Brimeret al. 1983), não apresenta efeito toxico pois as concentrações são abaixo dos níveis letais.

2.4. Efeitos da suplementação com gordura naturalmente protegida.

2.4.1. Consumo e digestibilidade

Os mecanismos através dos quais a suplementação lipídica pode causar redução do consumo de matéria seca ainda não estão totalmente esclarecidos, mas estariam relacionados aos efeitos da gordura sobre a fermentação ruminal, motilidade intestinal, aceitação da dieta pelo animal, liberação de hormônios intestinais e oxidação hepática das gorduras ingeridas (ALLEN, 2000).

Segundo Allen (2000), uma resposta esperada à suplementação lipídica é um maior tempo de retenção da digesta no rúmen, que é causado por fatores que levam

à redução da taxa de degradação da fibra e, portanto, à redução da passagem, o que por consequência aumenta o efeito de preenchimento do rúmen. Tal situação encontra bastante respaldo na literatura (Van Soest, 1994), e está associada com a suplementação de gordura livre. Neste caso, as gorduras ruminalmente inertes, podem ter menor efeito depressor de consumo.

A redução da digestibilidade da fibra, segundo Schauff & Clark (1992) e Van Soest (1994), estaria relacionada à incapacidade das bactérias ruminais de aderirem às partículas de alimento, condição essencial para a digestão microbiana do alimento por intermédio das enzimas extracelulares.

Além disso, a ação de hormônios como a colecistoquinina (CCK), segundo Choi et al. (2000), que é secretada em maior quantidade em resposta à suplementação lipídica e está relacionada à secreção de insulina e polipeptídeo pancreático (PP), tem influência sobre o consumo. Choi & Palmquist (1996) encontraram correlação negativa entre a liberação de CCK e insulina, e correlação positiva entre CCK e PP em vacas leiteiras. Esses autores concluíram que a CCK é um potente inibidor do apetite e que a presença de gordura no trato gastrointestinal é um fator estimulante à sua secreção. Este hormônio poderia exercer dois tipos de ação: o primeiro diretamente sobre o centro nervoso do apetite e o segundo sobre a motilidade do trato gastrointestinal, o que aumentaria o efeito de distensão (DRACKLEY et al., 1992; REIDELBERGER, 1994). Conforme Drackley et al. (1992), a CCK agiria inibindo o esvaziamento gástrico, o que desencadearia outros fatores de inibição de consumo.

Kennelly (1996) sugeriu que a adição de gordura na alimentação de ruminantes na forma de semente inteira de oleaginosas tem efeitos menos prejudiciais na ingestão de matéria seca, devido a uma liberação mais lenta do óleo da semente do que se a mesma quantidade fosse fornecida como óleo livre, assim resultando em nenhuma diminuição no consumo de matéria seca.

De acordo com Martin et al. (2008), a alimentação com semente de linhaça inteira não tem efeito negativo sobre o consumo de matéria seca e a produção de leite, devido a uma lenta liberação de ácidos graxos no líquido ruminal. Petit et al., (2009) observou que os animais alimentados com o mais alto nível de linhaça (15%

da dieta total) não produziram efeito sobre o consumo de matéria seca de vacas no início da lactação e tendiam ter menor digestibilidade da matéria seca.

Reduções (Martin et al., 2008), aumento (Gonthier et al., 2004) ou nenhum efeito (Doreau et al., 2009) da suplementação de linhaça sobre a digestibilidade de nutrientes por vacas leiteiras têm sido relatados. Martin et al. (2008) concluíram que a quantidade de lipídios adicionados e a forma que é fornecido (óleo ou semente) são os principais fatores determinantes para o efeito negativo dos ácidos graxos de linhaça sobre a digestibilidade.

Clark & Armentano (1993) avaliaram a efetividade da fibra do caroço de algodão e grãos secos de cereais em dietas de vacas em lactação, onde o caroço de algodão promoveu maior atividade de mastigação do que os grãos de cereais. Esses autores concluíram que o caroço de algodão pode servir como suplemento de fibra efetiva para dietas baseadas em silagem pré-seca de alfafa com baixa relação volumoso:concentrado. Segundo Villela et al. (1997), a inclusão de até 30% de caroço de algodão em rações concentradas não afeta os consumos de MS, MO, PB, FDN e NDT, bem como também não verificaram influências sobre a eficiência na síntese de proteína microbiana nem sobre os coeficientes de digestibilidade da MS, MO, PB e EE.

Neves et al. (2009), trabalharam com grãos de canola e observaram redução na digestibilidade da MS e MO para os tratamentos contendo lignosulfonato em comparação aos tratamentos sem lignosulfonato. Por outro lado Khorasani et al. (1992) avaliaram o efeito da utilização de grão de canola tratada com Jet-Splotted® e não obtiveram diferenças significativas nos coeficientes de digestibilidade da MS, MO, PB, FDN e FDA; contudo, encontraram redução na digestibilidade do EE na dieta que continha maior concentração de grãos protegidos.

Freitas Júnior, (2008) comparou fontes de gordura de óleo de soja refinado, grão de soja *in natura* e sais de cálcio de ácidos graxos com uma dieta controle sem adição de gordura. O autor observou que não houve diferença das fontes sobre a produção de leite corrigida. Entretanto os animais que receberam a ração contendo grão de soja como fonte de gordura apresentaram menor produção de leite em comparação com as demais rações utilizadas. Possivelmente esse resultado pode

ser atribuído ao menor consumo de energia digestível e menor consumo de energia líquida de lactação para os animais que consumiram essa ração, pois as rações foram formuladas para possuírem a mesma densidade energética e não houve diferença no consumo de matéria seca entre a ração contendo grão de soja e as demais rações experimentais. Mansfield & Stern (1994) também não observaram alteração na ingestão de MS e MO em vacas alimentadas com dietas contendo grãos de soja tratados ou não com lignosulfonato.

De maneira geral, a adição de gordura na forma protegida na dieta de ruminantes, não tem apresentado efeitos negativos sobre o consumo dos nutrientes quando comparada a adição dos mesmos valores na forma de óleo (não protegida), indicando que proteger a gordura é uma boa alternativa e traz benefícios à nutrição dos ruminantes (KENNELLY, 1996).

2.4.2. Produção e composição de leite

A gordura do leite é formada a partir dos ácidos acético e butírico, originados na fermentação ruminal, e de ácidos graxos com mais de 16 carbonos absorvidos no intestino ou mobilizados das reservas corporais, além dos AG de cadeia curta, sintetizados diretamente na glândula mamária. As alterações do teor de gordura do leite podem informar sobre a fermentação do rúmen, as condições de saúde da vaca e o funcionamento do manejo alimentar (MÜHLBACH et al., 2000).

A glândula mamária dispõe para a síntese de gordura do leite, a lipomobilização, dos ácidos graxos da dieta, ácidos graxos voláteis, corpos cetônicos e ácidos graxos de síntese bacteriana. Devido a esta ampla diversidade têm sido descritos mais de 400 ácidos graxos diferentes presentes no leite (PALMQUIST, 1991).

As gorduras, quando suplementadas para vacas em lactação, provocam modificações na composição do leite em maior ou menor grau (PALMQUIST & JENKINS, 1980). O efeito sobre a composição e a percentagem de gordura do leite é variável dependendo da fonte e do nível empregado.

Segundo Onetti & Grummer (2004), o nível de suplementação, perfil da gordura fornecida e interação com ingredientes da dieta basal, estão entre os fatores que

influenciam os resultados do uso de gorduras na alimentação de vacas leiteiras. Segundo estes autores, a identificação das possíveis interações é fundamental para prever a resposta animal à inclusão de gordura nas dietas.

As gorduras saturadas produzem melhores resultados do que as insaturadas com relação à produção de gordura do leite, principalmente quando são incluídas em altos níveis na dieta, por interferirem menos no metabolismo ruminal (CHALUPA et al., 1984). No entanto a utilização de produtos de origem animal, como o sebo, principal fonte saturada, esta proibida na nutrição de ruminantes.

A suplementação com gorduras protegidas pode ter como efeito o aumento do teor de gordura do leite, uma vez que eleva-se o aporte à glândula mamária de ácidos graxos de cadeia longa, desde que não produzam alterações sobre o ambiente ruminal (PALMQUIST & JENKINS, 1980). As fontes naturais de gordura livre podem, dependendo principalmente do grau de saturação e do nível de suplementação, determinar a redução do teor de gordura do leite pelos distúrbios que podem causar à fermentação ruminal (BAUMAN & GRIINARI, 2001).

Geralmente, óleos eficazmente protegidos contra a biohidrogenação ruminal aumentam a produção de gordura do leite (ASHES et al., 1992). Já o óleo de linhaça livre diminui a concentração de gordura do leite, devido à menor ingestão de matéria seca e menor digestibilidade da fibra (MARTIN et al. 2008). No entanto, a proteção ineficaz de linhaça inteira contra a biohidrogenação (Petit et al., 2002) ou baixo nível de gordura adicionada (Tymchuk et al., 1998) resultaria em nenhum efeito sobre a produção de gordura do leite. Em geral, a redução da concentração de gordura do leite parece ser devido à presença de ácidos graxos altamente insaturados, que afetam a fermentação do rúmen.

Kennelly (1996) estudou os efeitos da inclusão de semente oleaginosa na dieta de vacas leiteiras em relação à composição de gordura no leite. Ele observou que as transformações físicas de oleaginosas aumentou a digestibilidade total de lipídios das sementes oleaginosas e melhorou o efeito sobre a composição de ácidos graxos do leite em relação a semente intacta.

Petit (2004) observou um aumento de 29% da produção de leite com dietas fornecendo 9,7% de linhaça inteira na MS em comparação à sem adição de gordura, fornecida a vacas leiteiras após o parto. Da mesma forma, vacas leiteiras na fase inicial da lactação alimentadas com dietas com 10% de linhaça e aqueles alimentados com 10% de semente de girassol tiveram produção de leite semelhante (AMBROSE et al., 2006).

Níveis crescentes de inclusão de grãos de canola na dieta de vacas leiteiras, Khorasani & Kennelly (1998) não constataram efeito do aumento da inclusão de canola, sobre o consumo de matéria seca, do mesmo modo que sobre a produção de leite, o que se traduziu em resultados semelhantes para eficiência alimentar.

Glasser et al. (2008) realizaram uma meta-análise de dados publicados sobre a suplementação de vacas leiteiras com lipídios de sementes oleaginosas. Eles concluíram que o teor de ácidos graxos C18 totais na gordura do leite aumentou de forma quadrática em todos os suplementos de acordo com o nível lipídico e que a proteção física do suplemento melhorou muito o conteúdo ácido linoleico e alfa ácido linolênico na gordura do leite.

Petit et al. (2009) e Glasser et al. (2008) observaram que o perfil de ácidos graxos no leite foi ligeiramente melhorado disponibilizando linhaça como fonte de gordura, com concentrações mais elevadas de ácidos graxos (por exemplo, ômega-3) que são reconhecidos como benéfico para a saúde humana. Esses resultados sugerem que a alimentação de linhaça inteira pode resultar em mudanças na composição de ácidos graxos do leite, trazendo benefícios para os consumidores.

Da mesma forma, estudos mostram que a composição de ácidos graxos do leite de vaca se altere em resposta a inclusão de linhaça na dieta causando uma redução na concentração de ácidos graxos de cadeia curta (C4 a C12), bem como C16 (ácido palmítico), enquanto que a concentração de ácidos graxos monoinsaturados e de cadeia longa tem aumentado (GLASSER et al., 2008).

O uso de fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras pode também promover redução no teor de proteína do leite. Por outro lado, em alguns casos a redução no teor de proteína do leite pode ocorrer possivelmente pelo simples efeito

de diluição devido ao aumento da produção de leite quando são fornecidas rações com adição de gordura (Garnsworthy, 2002), ou por variações nas concentrações das frações proteicas no leite, como a concentração de caseína, ou nas variações nas concentrações de alguns hormônios que podem promover mudanças fisiológicas que afetam a síntese de proteína do leite (WU & HUBER, 1994).

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

A alimentação de dietas de 9,7% de linhaça inteira na matéria seca em comparação com sais de cálcio de óleo de palma resultou num aumento de 5,2% na concentração de proteína do leite (PETIT et al., 2004). O rendimento de proteína do leite aumentou significativamente quando as vacas, na fase inicial da lactação, foram alimentados com uma dieta de 9,7 para 10,4% de linhaça na dieta como resultado da maior produção de leite e maior concentração de proteína do leite (PETIT, 2002).

Grãos de linhaça inteiros e sais de cálcio de ácidos graxos foram estudados por CAVALIERI et al. (2005). Os autores relataram que a produção de leite dos animais que receberam grãos de linhaça foi menor do que aqueles que receberam gordura protegida de sais de cálcio. Porém, as percentagens de gordura, proteína e sólidos totais foram maiores para o tratamento grãos de linhaça. Desta forma, a produção de leite corrigida para 4% de gordura foi igual para os tratamentos. Os autores relataram ainda que o fornecimento de grãos de linhaça aumentou o ácido graxo α -linolênico (C18:3) e gordura protegida de sais de cálcio aumentou CLA, ambos importantes para a saúde humana.

Freitas Júnior, (2008) não observou efeito das fontes de gordura nas rações sobre a produção de leite corrigida e nos teores de proteína, lactose, extrato seco total e desengordurado, e contagem de células somáticas. Entretanto, os animais que receberam a ração contendo grão de soja como fonte de gordura apresentaram

menor produção de leite e menor produção de proteína quando comparada as demais rações utilizadas. Vargas et al. (2002) e Duarte et al. (2005) verificaram resultados semelhantes a este estudo quando utilizaram grão de soja como fonte de gordura para avaliar a produção e composição do leite.

Smith (1978) enfatiza que a depressão do teor de proteína do leite observada em alguns estudos com o uso de gordura possivelmente pode ser explicada pela redução do aproveitamento de glicose, consequência da redução da concentração de propionato ruminal, causando baixa concentração de insulina no plasma e menor disponibilidade de glicose.

3. Projeto de pesquisa

**Uso de Gordura protegida e naturalmente protegida na dieta de bovinos de
leite**

(Código do projeto: 5301)

1. Caracterização do Problema

A evolução genética dos rebanhos leiteiros e das técnicas de manejo, ao longo dos anos, tem propiciado o aparecimento de situações onde os animais exibem elevada produção (Coppock & Wilks, 1991). Em muitas circunstâncias, o elevado potencial de produção leiteira dos animais não é totalmente expresso, ou quando é, compromete atividades como a reprodução, por exemplo, principalmente devido às limitações existentes na capacidade de o animal ingerir a quantidade necessária de energia proporcionalmente à elevada demanda (ELLIOTT et al., 1993; VASQUEZ-AÑON et al., 1997).

A utilização de gordura na dieta de vacas leiteiras também se justifica no fato de que na fase inicial da lactação de vacas de alta produção existe um período de reduzida capacidade de ingestão de alimentos associado à elevada demanda de nutrientes para síntese de leite, conhecido como fase de Balanço Energético Negativo (BEN), impulsionados também pelo potencial genético e perfil hormonal dos animais neste período.

As gorduras têm sido utilizadas na alimentação animal, com destaque nas últimas duas décadas, visando elevar a densidade energética das dietas (Grummer, 1995) e modificar o perfil da gordura do leite (Griinari et al., 2004; Onetti & Grummer, 2004). A utilização de fontes de gordura na dieta de vacas leiteiras apresenta-se como uma alternativa interessante para a alimentação de vacas de alta produção, principalmente no início da lactação (NRC, 2001).

Além de ser uma fonte energética de alta qualidade a suplementação de vacas leiteiras com gorduras, pode ter outras vantagens, como o aumento parcial da eficiência da produção de leite pela incorporação direta da gordura da dieta na gordura do leite; substituição de carboidratos rapidamente fermentáveis visando à otimização de consumo de forragem e fermentação ruminal; aumento da flexibilidade para o preparo da ração; modulação do perfil de ácidos graxos da gordura do leite ou de tecidos e aumento da absorção de nutrientes solúveis (NRC 2001; PALMQUIST et al., 2006). Assim, a substituição de cereais por gordura é um método de incrementar a densidade energética sem comprometer o conteúdo em fibra (PALMQUIST, 1984).

Dentre os alimentos comerciais disponíveis para este fim, destacam-se as gorduras protegidas (Sais de Cálcio de Ácidos graxos) com elevada concentração energética e ruminalmente inertes, sendo uma alternativa bastante pesquisada nos últimos 30 anos, com resultados promissores, e que levou ao uso dessa técnica em muitos sistemas de produção. Entretanto, devido ao aumento do custo desse insumo e as flutuações nas margens de lucro na atividade leiteira, o uso dessas fontes de gordura tem se tornado pouco interessante sob o ponto de vista econômico, o que direciona as pesquisas a buscar outras fontes de gordura, entre elas naturalmente protegidas (grãos oleaginosos), que ao mesmo tempo em que amenizam o balanço energético negativo da fase inicial da lactação, não prejudiquem a fermentação ruminal e ainda possam agregar valor diferenciado ao produto final, como propriedades nutracêuticas e/ou funcionais ao leite, pelo aumento na concentração de ácidos graxos mono e poli-insaturados.

As gorduras naturalmente protegidas são fontes lipídicas fornecidas aos ruminantes sem quaisquer tratamentos químicos, térmicos ou outros. Os grãos oleaginosos como caroço de algodão, linhaça, girassol, canola e soja são os principais representantes desta fonte lipídica, quando fornecidos na sua forma inteira. A gordura presente nestes grãos pode ser considerada rúmen inerte, com pouco ou nenhum efeito negativo sobre a digestibilidade dos outros componentes da dieta (ALLEN, 2000; PALMQUIST et al., 2006).

Esta proteção presente nestes grãos pode ser conferida por fatores como, a barreira física conferida pela casca, geralmente de origem fibrosa, que limita a atuação da microbiota ruminal e a dissolução rápida da gordura no bolo alimentar. Além disso, o fornecimento dos grãos de forma inteira auxilia na proteção tornando o conteúdo lipídico indisponível a ação imediata e direta da microbiota ruminal, bem como reduz a área superficial de ação dos microorganismos.

Diversas fontes lipídicas disponíveis em nosso meio têm sido pesquisadas em substituição àquelas tradicionalmente utilizadas (LÓPEZ, 2001; NORBERG, 2003; SCHAFHÄUSER, 2005).

2. Objetivos e Metas

Com base no exposto, o presente projeto de pesquisa tem como proposta avaliar a inclusão de fonte de gordura naturalmente protegidas, tais como nos grãos de girassol, linhaça e soja, sendo estes fornecidos de forma integral, em dietas contendo 5,8 % de EE na MS e comparadas com uma dieta contendo fonte de gordura sais de cálcio de ácidos graxos (gordura protegida) na dieta de vacas leiteiras da raça Jersey no terço inicial de lactação. O objetivo de minimizar o balanço energético negativo a que estão expostos estes animais neste período, assim como aumentar a concentração de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados e outras substâncias de reconhecido valor nutracêutico na gordura do leite, além de verificar a influência do uso de gordura naturalmente protegida sobre o perfil metabólico dos animais, por meio de indicadores da atividade hepática e da mobilização tecidual de gorduras, assim como avaliar as correlações entre as diferentes fontes de gordura das dietas no que se refere ao consumo de matéria seca e suas frações constitutivas, digestibilidade da dieta, produção e composição do leite, perfil metabólico e produção de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados no leite.

3. Metodologia

O experimento de campo será conduzido no sistema de Pecuária de Leite – SISPEL, localizado na Estação Experimental de Terras Baixas (EETB) da EMBRAPA Clima Temperado, situada no município de Capão do Leão – RS.

Serão utilizadas 8 vacas Jersey PO, distribuídas em dois quadrados latinos, selecionadas a partir de rebanho de cerca de 80 animais, estarão entre a segunda e a terceira lactação, com datas de parição distintas mas aproximadas, produzindo em média, 17kg (± 2 kg) de leite, com peso vivo médio de 400kg, mantidas em galpão *freestall*, individualmente com disponibilidade de água. Os períodos experimentais serão de 14 dias, sendo os primeiros 10 dias de adaptação às dietas e os últimos cinco dias de cada período para realização das coletas. Cada animal será considerado como uma parcela experimental.

Os tratamentos a serem empregados consistirão de uma dieta com o uso de sais de cálcio de ácidos graxos protegido utilizando uma formulação comercial

(Megalac®), já a inclusão de fontes naturalmente protegidas será feita através de grãos oleaginosos de Soja, Girassol e Linhaça, respectivamente nos tratamentos S, G e L.

Todas as variáveis estudadas, poderá ser realizada análise de variância e teste Tukey de comparação de médias, no nível de significância de 5%, através do pacote estatístico SAS.

Os animais serão mantidos em baias individuais, em galpão de alvenaria, com telhado de zinco, armação e piso de concreto (frisado), camas de borracha sintética, sem paredes laterais, com 3,5m de pé direito. Em cada baia haverá um bebedouro com água à disposição dos animais e cocho para o fornecimento individual de alimentos, sendo um cocho para fornecimento da mistura de volumosos (silagem de milho) e outro para o fornecimento individual do concentrado, sendo este último oferecido em três momentos do dia, a fim de garantir consumo total.

A alimentação volumosa consistirá de silagem de milho, sendo fornecidos 2 vezes ao dia, objetivando sobras de 10 - 15%, para garantir que o consumo seja à vontade. As dietas serão formuladas levando em consideração o peso dos animais, e estimativa do seu potencial de produção, e serão testadas em um simulador de desempenho de dietas (NRC, 2001). Os concentrados serão à base farelo de soja, grãos de milho moído e suplemento mineral vitamínico, sendo adicionado a este as diferentes fontes de gordura. Será preconizada uma relação volumoso:concentrado de aproximadamente 50:50.

As vacas serão ordenhadas mecanicamente, duas vezes ao dia, com intervalo de 10 horas entre a ordenha da manhã (6h e 30min.) e a tarde (18h e 30min.), sendo as produções individuais de leite medidas em cada ordenha para efeito de controle experimental.

Diariamente, antes de iniciar a ordenha, serão realizados testes com a caneca de fundo preto para verificação da presença de mastite clínica e mensalmente será feito o teste de CMT (California Mastitis Test) para verificação de mastite subclínica.

No início da fase experimental e ao final de cada período as vacas serão pesadas durante dois dias consecutivos, sendo a média utilizada como a média de cada período.

O consumo de matéria seca será obtido pela diferença entre a quantidade de alimento consumido e as sobras diárias, durante os 4 dias de coleta experimental. Os coeficientes de digestibilidade das dietas e seus componentes nutricionais serão determinados com base na mensuração de consumo e estimativa da excreção de fezes, utilizando como marcador cromo (Cr_2O_3).

Os ingredientes e respectivas dietas serão analisados bromatologicamente, bem como as fezes de cada período, a fim de determinar a digestibilidade individual de cada constituinte nutricional. Serão analisados os teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) serão determinados segundo procedimentos descritos por Silva & Queiroz (2002), e fibra insolúvel em detergente neutro corrigido para cinzas (FDNc) e fibra insolúvel em detergente ácido corrigido para cinzas (FDAc), conforme Van Soest et al. (1991), com adição de alfa amilase termoestável mas sem uso desulfito, no Laboratório de Nutrição Animal (LABNUTRI) da EMBRAPA Clima Temperado.

Os teores Cálcio, Fósforo, Magnésio e Cromo dos alimentos serão determinados conforme procedimentos descritos por Silva & Queiroz (2002), no Núcleo Integrado em Desenvolvimento de Análises Laboratoriais (NIDAL) do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos (DTCA) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Será analisado o perfil metabólico sanguíneo, sendo realizadas as análises de glicose, colesterol total, triglicerídeos, uréia, macrominerais e as concentrações de aspartato amino transferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT), beta-hidroxiacetato (BHBA), ácidos graxos não esterificados (AGNE), em laboratório comercial, na cidade de Pelotas, RS.

As análises do leite para gordura, proteína, caseína, sólidos totais, lactose e uréia serão realizados por espectroscopia infra vermelho e por citometria de fluxo, executadas no LABLEITE da Embrapa Clima Temperado.

Será determinado o perfil de ácidos graxos (incluindo os CLA: C18:2 cis-9 trans-11 e C18:2 trans-10 cis-12 e o ácido trans vacênico-precursor de CLA) das amostras será determinado, após extração da fração lipídica, seguida de saponificação e esterificação dos ácidos graxos, por cromatografia gasosa

(equipamento Agilent 6890) com detector de ionização de chama (FID), utilizando-se coluna capilar de sílica fundida, SP-2560 (100m x 0,2mm x 0,2 μ m; Supelco). As corridas terão uma duração de cerca de 70 minutos. A temperatura do injetor será de 250°C e do detector de 300°C. A injeção será no modo “split”, com relação 21:1. O gás de arraste será o hidrogênio com fluxo de 40ml/minuto e 18psi de pressão na cabeça da coluna. Os picos dos ácidos graxos serão identificados por comparação com os tempos de retenção de padrões (CLA: mix de ésteres do ácido octadecadienoico cis-9, trans-11 e cis-10, trans-12 Sigma; ácido vacênico: éster metílico do ácido trans 18:1 Sigma; demais ácidos graxos: mix com 37 ésteres de ácidos graxos Supelco). O perfil de ácidos graxos será expresso como percentagem do total de ácidos graxos identificados, também será realizado o fracionamento do nitrogênio total (NT) em nitrogênio não proteico (NNP), nitrogênio da proteína verdadeira (N-PV), nitrogênio caseínico (N-cas) e nitrogênio do soro (N-soro), conforme Silva et al. (1997) no Núcleo Integrado em Desenvolvimento de Análises Laboratoriais (NIDAL) do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos (DTCA) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

4. Resultados e Impactos esperados

Ao final deste projeto espera-se obter subsídios para fazer recomendações sobre a inclusão das diferentes fontes de gordura naturalmente protegidas, na dieta de vacas em lactação, em substituição aos sais de cálcio de ácidos graxos protegido, comercialmente utilizado, minimizando os efeitos do balanço energético negativo do terço inicial da lactação, preservando a saúde e produtividade animal, bem como alterar a composição da gordura do leite destes animais, aumentando a concentração de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados e outras substâncias de reconhecido valor nutracêutico presentes na gordura do leite.

Ainda com os resultados do trabalho será realizada uma dissertação de mestrado e conseqüentemente a publicação de artigos científicos em periódicos indexados e resumos em eventos.

5. Cronograma do Projeto

Atividades	Ano	1° ano do projeto/bimestres						2° ano do projeto/bimestres					
	Bimestre	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Seleção dos animais, em função da ordem de lactação e data de parto			#										
Montagem da estrutura e compra de insumos para manutenção dos animais durante o experimento			#										
Análise bromatológica dos alimentos (componentes das dietas)			#	#									
Formulação e elaboração da dieta para a fase de lactação (dietas experimentais)				#	#								
Coleta e análise de amostras da dieta e fezes (fornecido e sobras)						#	#	#					
Coleta e análise de amostras de sangue						#	#	#					
Coleta e análise de amostras de leite						#	#	#					
Análise estatística dos dados											#		
Revisão e Atualização bibliográfica		#	#						#	#	#		
Redação de artigos e dissertação												#	#

6. Outros Projetos e Financiamentos

O Núcleo Integrado em Desenvolvimento de Análises Laboratoriais (NIDAL) colaborará com subsídio para elaboração de análises de minerais, fracionamento proteico e perfil de ácidos graxos totalizando aproximadamente, R\$ 4.000,00 reais, referentes a manutenção de equipamentos e disponibilidade de reagentes.

O Laboratório de Nutrição Animal (LABNUTRI) da EMBRAPA Clima Temperado contribuirá para realização das análises bromatológicas e manutenção do sistema produtivo de leite contribuindo com aproximadamente R\$ 3.500,00.

O LABLEITE da Embrapa Clima Temperado, custeará as análises que qualidade do leite, com valores próximos a R\$ 320,00.

O custeio do manejo dos animais e das dietas utilizadas no experimento será realizado com recursos de projetos já aprovados dentro dos macro programas da Embrapa, destinados à manutenção dos rebanhos da empresa, estando, portanto, garantidos para a execução do projeto.

7. Aspectos Éticos

Os protocolos experimentais do presente projeto de pesquisa seguem as regras e ditames do código de ética em experimentação animal do Comitê de Ética em Experimentação Animal da EMBRAPA.

8. Referências Bibliográficas

ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 7, p. 1598-1624, 2000.

COPPOCK, C.E. e WILKS, D.L. Supplemental fat in high energy rations for lactating cows: Effects on intake, digestion, milk yield, and composition. **Journal Animal Science**, v. 69, p. 3826-3837, 1991.

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

GRIINARI, J. M; BAUMAN, D. E; CASTAÑEDA-GUTIÉRREZ, E. Novos conceitos relacionados à manipulação da gordura do leite. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 1., 2004, Passo Fundo-RS. **Anais...** Local: Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite, 2004.

GRUMMER, R.R. Ruminant inertnes vs digestibility of fat supplements: can there be harmony? In: CORNELL CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 57., 1995, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, p. 13-24, 1995.

LÓPEZ, S. E. Suplementação com diferentes fontes de gordura para vacas Jersey de alta produção na fase inicial da lactação. **Tese de doutorado**. Programa de Pós-graduação em Zootecnia – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS. 2001. 176 p.

NÖRNBERG, J. L. Efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas Jersey na fase inicial de lactação. 2003. 199p. **Tese de doutorado**. Programa de Pós-graduação em Zootecnia – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS. 2003.

NRC.NATIONAL RESEARCH COUNCIL.**Nutrient Requeriments of Dairy Cattle**.Seventh Revised Edition. Washington, D. C. National Academy Press. 2001.

ONETTI, S. G.; GRUMMER, R. R. Response of lactating cows to three supplemental fat sources as affected by forage in the diet and stage of lactation: a meta-analysis of literature. **Animal Feed Science and Technology**, v. 115, n. 1, p. 65-82, 2004.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de Lipídeos.**In: BERCHIELLI, T. T; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, cap.13, 2006.

PALMQUIST, D.L. Calcium soaps of fatty acids with varying unsaturation as fat supplements for lactating cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 64, n. 5, p. 240-241, 1984.

SCHAFHÄUSER, J. JR. **Níveis crescentes de gordura de arroz para vacas leiteiras de alta produção no início da lactação**. Tese de doutorado. Programa de Pós-graduação em Zootecnia – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS. 2005. 140 p.

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

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition.**Journal Dairy Science**, Champaign, v.74, n. 10, p. 3583- 3597, 1991.

VASQUEZ-AÑÓN, M.; BERTICS, S. J.; GRUMMER, R. R.The effect of energy source during mid to late lactation on liver triglyceride and lactation performance of dairy cows.**JournalDairy Science**, Champaign, v. 80, n. 10, p. 2504-2512,1997.

4. Relatório do Trabalho de Campo

4.1. Local e instalações

O experimento foi conduzido nas dependências do Sistema de Produção de Leite do Sistema de Pesquisa e Desenvolvimento em Pecuária Leiteira (SISPEL) na Estação Terras Baixas da Embrapa Clima Temperado, município de Capão do Leão, situado na região Sul do estado do Rio Grande do Sul a 31° 52' 20" de latitude sul e 52° 21' 24" de longitude oeste, com altitude média de sete metros acima do nível do mar, na região denominada Encosta do Sudeste.

Durante a realização do experimento, os animais foram mantidos em baias individuais, em galpão de alvenaria, com telhado de zinco, armação e piso de concreto (frisado), camas de borracha sintética, sem paredes laterais, com 3,5m de pé-direito, com livre acesso a água, e acesso a cocho individual para concentrado e para volumoso. O trabalho foi realizado com aprovação dos comitês de ética da EMBRAPA Clima Temperado e da Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil, estando registrado sob protocolo nº 6850.

4.2. Animais experimentais

Foram utilizadas oito vacas da raça Jersey PO multíparas (segunda e terceira cria), em média com 40 dias de lactação, peso médio inicial de 406kg (± 50 kg) e produção inicial média de 17kg (± 2 kg) de leite, selecionadas a partir de um rebanho de aproximadamente 80 animais.

4.3. Tratamentos

As dietas foram formuladas levando em consideração o peso dos animais e a estimativa do seu potencial de produção, e testadas em simulador de desempenho de dietas (NRC, 2001), para serem isoproteicas, isoenergéticas e isofibrosas e atender a exigência da categoria. Os tratamentos utilizados foram Megalac® (M), Linhaça (L), Girassol (G) e Soja (S) objetivando proteção natural dos grãos oleaginosos.

Os concentrados continham milho em grão, farelo de trigo, farelo de soja, premix vitamínico-mineral e calcário. O volumoso ofertado consistiu de silagem de milho.

4.4. Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o de duplo quadrado latino 4x4, com quatro tratamentos e quatro períodos experimentais. Cada animal considerado como uma unidade experimental. As oito vacas foram distribuídas segundo data de parto, peso vivo e ordem de lactação nos dois quadrados, sendo que os dois começaram em média com 40 dias pós parto.

4.5. Duração do experimento e períodos experimentais

Os animais permaneceram confinados durante 61 dias, dos quais cinco dias destinados a adaptação ao confinamento, recebendo neste tempo uma dieta pré-experimental, visando também a determinação inicial do volumoso a ser ofertado, a fim de obter sobras da ordem de 10%, visando consumo à vontade.

O período experimental e de coleta de dados a campo, dos dois quadrados, foi de 18 de outubro à 26 de dezembro de 2013, divididos em 4 períodos experimentais de 14 dias. Os períodos experimentais compreenderam dez dias de adaptação as dietas experimentais e quatro dias de coleta de dados, descrito por Arriaga (2010), no que se refere às sobras de volumoso e coleta de fezes. As amostras de leite e sangue foram coletadas no 13^o e 14^o dias de cada período.

4.6. Condução do experimento

Durante a realização do experimento de campo, as vacas foram ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia em ordenhadeira canalizada tipo duplo 4x4 equipada com medidor automático de leite, expresso em kg de leite por ordenha, e extrator automático de conjuntos, sendo observado intervalo de 12 horas entre a ordenha da manhã (6h e 30min) e tarde (18h e 30min), e as produções individuais de leite medidas a cada ordenha para efeito de controle experimental.

No início do período experimental e nos quatro dias consecutivos de coleta de amostras de cada período, as vacas foram pesadas logo após a ordenha da manhã, e antes do fornecimento do alimento, em balança individual analógica, sendo a média utilizada como peso médio individual do animal no período.

O alimento volumoso foi fornecido em dois momentos do dia (manhã e tarde), em quantidade suficiente para proporcionar sobras de 10 – 15%, garantindo o consumo à vontade. O alimento concentrado foi fornecido em três momentos do dia (08:00; 13:00 e 19:30hs), em cocho separado do volumoso, a fim de obter-se consumo total. Os ingredientes do concentrado das diferentes dietas experimentais, com exceção do Megalac® e dos grãos oleaginosos, foram misturados previamente ao início do experimento. Para a adição dos grãos na ração, foram pesadas manualmente a cada dois dias separado o volume correspondente a cada refeição, de cada tratamento, em saco de plástico apropriado e identificados. Foram disponibilizados cochos individuais de água, com capacidade para 50 litros, sendo estes lavados e abastecidos diariamente ou conforme a necessidade.

A silagem de milho foi amostrada diariamente durante os quatro dias de cada coleta. A silagem foi acondicionada em saco plástico, identificada e armazenada em freezer (-18°C), sendo formada uma amostra composta no final de cada período.

As sobras de volumoso foram retiradas e pesadas diariamente pela manhã antes do fornecimento de novo volumoso, durante os períodos de coleta foram coletadas amostras representativas, armazenadas em freezer perfazendo uma amostra composta por período e por indivíduo. Ao final de cada período, as subamostras de cada animal foram misturadas e retiradas uma amostra composta representativa dos quatro dias de coleta de sobras por animal por período.

Para estimativa da excreção fecal e determinação da digestibilidade aparente das frações nutrientes das dietas, foram administradas 10g de óxido de cromo (Cr_2O_3), fracionado em duas doses diárias de 5g, após as ordenhas da manhã e da tarde, na forma de envelope de papel manteiga, sendo administrado em regime de ingestão forçada com auxílio de tronco imobilizador, iniciando-se 96 horas antes da primeira coleta de fezes e estendendo-se até a manhã do quarto dia de coleta de cada período experimental.

As coletas de fezes e sangue foram realizadas durante o experimento, em tronco de contenção, após a ordenha. As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal com utilização de luva apropriada para palpação retal, em dois momentos do dia, após a ordenha da manhã e da tarde, durante os quatro dias de coleta de cada período experimental. Tão logo feita a coleta, estas foram acondicionadas em sacos plásticos individuais identificados, sendo conservada em freezer a temperatura de -18°C.

As amostras de sangue foram obtidas através de punção jugular utilizando sistema de coleta em tubo estéril com vácuo, contendo gel separador, sendo retirados três tubos de 10 ml por animal por coleta, para possível contra prova e ou análises necessárias.

Diariamente, antes de dar-se início à ordenha, foram realizados testes com caneca de fundo preto para verificação da presença de mastite clínica e quinzenalmente teste de CMT (California Mastitis Test) para verificação de mastite subclínica em todos os animais experimentais.

Durante o período em que os animais permaneciam na sala de ordenha, as baias individuais do *freestall* foram limpas, primeiramente com um sistema de refluxo de água de limpeza, e posteriormente lavadas com mangueira de alta pressão.

4.7. Preparo de Amostras

As sub amostras de fezes e sobras de volumoso de cada animal, obtidas nos dias de coleta experimental em cada período, foram descongeladas à temperatura ambiente e misturadas em iguais proporções de peso, sendo retirada desta a amostra a ser processada. O mesmo foi feito com as amostras de silagem e feno de alfafa de cada período. As amostras compostas de sobras de volumoso, silagem de milho, foram pesadas em sacos de papel, previamente tarados e identificados, sendo então colocados em estufa com circulação forçada de ar a 55°C por 72 horas a fim de obter uma amostra parcialmente seca. Para esta determinação, as amostras de fezes foram acondicionadas em bandejas de alumínio.

Após determinação da matéria parcialmente seca (MPS) das amostras, estas foram moídas em moinho do tipo *Willey* com peneira de crivos de 1 mm e

aconditionadas em sacos plásticos identificados para posterior análise bromatológica. As amostras de concentrados e seus ingredientes foram diretamente moídos e armazenados em sacos plásticos identificados.

A coleta de amostras de leite, realizadas no 13^o e 14^o dias de cada período experimental, foram feitas retirando-se uma alíquota do leite total, previamente homogeneizado, obtido em cada ordenha (aprox. 600 ml), sendo este volume coletado igualmente na ordenha da tarde, e posteriormente misturado proporcionalmente ao volume produzido em cada ordenha, formando assim a amostra final de cada dia de coleta de cada animal. O produto da coleta do dia, de cada animal, foi separado em dois frascos individuais de vidro âmbar com capacidade para 100 ml de amostra, e em frasco fornecido pelo Laboratório de Análise de Leite (LabLeite) da Embrapa Clima Temperado, destinado a análise de composição do leite. Todos os frascos foram devidamente identificados, sendo os frascos âmbar conservados a -18°C, em freezer, para posterior análise do perfil de ácidos graxos. As amostras destinadas ao Laboratório de Análises de Leite (LabLeite) da Embrapa Clima Temperado foram acondicionadas em frascos estéreis apropriados contendo cada um uma dose de conservante denominado Bronopol (8mg de 2-Bromo-2-Nitropropano-1,3Diol e 0,3mg de Natamicina), conservadas sob refrigeração e agitadas a cada 10 minutos por meia hora até dissolução total da pastilha de conservante, o que se verifica pela coloração alaranjada homogênea adquirida pela amostra de leite. Tão logo dissolvido o conservante, as amostras foram remetidas, sob refrigeração a 5°C em caixa térmica, ao laboratório para realização das análises.

As amostras de sangue foram colhidas no 13^o e 14^o dias de cada período experimental. Após a coleta os tubos foram deixados em repouso e ao abrigo da luz direta e calor por 10 minutos, sendo tão logo colocados em centrífuga apropriada, com velocidade programada de 4800 rpm por 12 minutos. Destes, 2 tubos foram levados em caixa térmica contendo gelo reciclável para um laboratório de análises clínicas na cidade de Pelotas, RS, onde foram analisados. Do tubo restante foram retiradas amostras de soro sanguíneo e acondicionadas em *ependorf* devidamente identificados e selados com a utilização de *parafilm*, sendo estocados em freezer para posterior utilização.

4.8. Análises e Avaliações Laboratoriais

Os ingredientes das dietas, as sobras de volumoso bem como as fezes de cada animal em cada período, foram analisados bromatologicamente a fim de determinar a composição e a digestibilidade individual de cada constituinte dietético. As amostras de silagem, sobra de volumoso e fezes, e as amostras de concentrado foram analisadas, após moagem, para matéria seca (MS) em estufa a 105°C, matéria orgânica (MO) por incineração em mufla a 550°C durante 5 horas, proteína bruta (PB) pelo método micro Kjeldahl ($N \times 6,25$), extrato etéreo (EE) por extração com éter de petróleo em sistema saquinhos filtrantes, desenvolvida pela Ankom Technology Inc. (Macedon, NY) (LIU, 2011), seguindo a (AOCS, 2005), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), com adição de α -amilase termoestável mas sem uso de sulfito de sódio, lignina em detergente ácido (LDA) utilizando saquinhos de poliéster colocados em autoclave conforme descrito por Senger, et. al (2008), no Laboratório de Nutrição Animal da EMBRAPA Clima Temperado.

Os teores de cálcio (Ca), dos ingredientes das dietas, das sobras de volumoso e das fezes foram determinados por digestão nitro-perclórica e leitura em equipamento de absorção atômica por chama, segundo metodologia descrita por SARRUGE & HAAG (1974), utilizou-se desta mesma metodologia para determinação dos teores de cromo (Cr) presentes nas fezes, bem como a determinação real do elemento cromo no óxido de cromo (Cr_2O_3) fornecido aos animais, sendo as análises realizadas na Central Analítica da EMBRAPA Clima Temperado.

O consumo de matéria seca (CMS) foi obtido pela diferença entre a quantidade dos componentes das dietas ofertados e as sobras diárias, durante os quatro dias de coleta experimental. Avaliou-se o consumo de matéria seca considerando a quantidade ofertada e as sobras de matéria seca do volumoso após 24h, visto que para o concentrado obteve-se consumo total. Os consumos de cada nutriente (MO, PB, FDN, EE, CNF) foram obtidos a partir da multiplicação dos teores de cada fração bromatológica à matéria seca consumida.

A eficiência alimentar foi determinada através da média de produção de leite e produção corrigida para energia em relação ao consumo médio de MS e FDN em kg/dia.

Foram analisados o perfil metabólico sanguíneo através da determinação de glicose, colesterol total e triglicerídeos utilizando método enzimático colorimétrico automatizado, ácidos graxos não esterificados (AGNE) por espectrofotometria enzimática, uréia e as concentrações das enzimas aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT) por método cinético enzimático automatizado, em laboratório comercial na cidade de Pelotas, RS.

A produção de leite foi obtida fazendo-se a média de leite produzido nos quatro dias de coleta de cada período, esta foi corrigida para energia a qual foi calculada através da equação: $PLCE = (\text{kg de Leite} * (((383 * \text{Gordura \%} + (242 * \text{Proteína \%}) + (165,4 * \text{Lactose \%}) + 20,7) / 3140))$, descrita por Sjaunja et al. (1990).

As análises do leite para gordura, proteína total, extrato seco total (EST), lactose e uréia foram realizadas por espectroscopia infravermelha, seguindo protocolos do Laboratório de Análises de Leite – LABLEITE da Embrapa Clima Temperado. Os teores de extrato seco desengordurado foram obtidos pela diferença entre os sólidos totais e o teor de gordura do leite. Já os teores de matéria mineral do leite foram obtidos pela diferença entre os teores de sólidos totais diminuído da soma de proteína, gordura e lactose.

As estimativas de produção fecal total (PFT) para os diferentes tratamentos e períodos foram obtidas levando em consideração as concentrações de cromo fecal através da fórmula: $PFT = (\text{g Cr fornecido dia}^{-1}) / (\text{g Cr} / \text{g MS fecal})$.

Os carboidratos não fibrosos foram calculados através de equação proposta por Hall (2003), em que: $CNF = (100 - \%FDN - \%PB - \%EE - \%MM)$, considerando o valor de FDN.

Determinou-se os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (DMS), da matéria orgânica (DMO), do extrato etéreo (DEE), da fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (DFDN), dos carboidratos não

fibrosos corrigidos para cinzas e proteína (DCNF) das dietas experimentais, segundo fórmula: $CDA (\%) = (g \text{ nutriente consumido} - g \text{ nutriente excretado}) / g \text{ nutriente consumido} \times 100$.

5. Artigo 1

Formatado conforme as normas da revista **Animal Feed Science and Technology** (ISSN-03778401).

1

2

3

4

5

6 **Fontes lipídicas suplementares em dietas para vacas no terço inicial de lactação:**
7 **efeitos sobre o consumo, digestibilidade e perfil metabólico**

8

9 Ana Paula, B. Souza^{*}, Schafhäuser, J.^b, Scheibler, R.B.^a, Rizzo, F.A.^a,
10 Nörnberg, J. L.^c, Silva, J.L.S.^b,

11

12

13

14

15

16

*^a Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Pelotas,
Pelotas, RS, Brasil*

17

18

19

*^b Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Clima Temperado,
Pelotas, RS, Brasil*

20

21

22

*^c Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa
Maria, Santa Maria, RS, Brasil*

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32 * Endereço para correspondência: Tel.: +55 055 99617535, Endereço de e-mail:

33 anapaulabinato@gmail.com

34

35 Resumo

36 O trabalho avaliou o efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas em lactação
37 quanto a produção de leite, eficiência alimentar, consumo e digestibilidade de nutrientes
38 e perfil metabólico hepático. Foram utilizadas oito vacas da raça Jersey distribuídas em
39 dois quadrado latinos, mantidas em confinamento, em galpão *freestall*. As fontes
40 testadas foram sabões de cálcio (Megalac®) e grãos inteiros de Linhaça, Girassol e
41 Soja. As dietas apresentaram média de 5,8% de extrato etéreo na MS. Não foram
42 observadas diferenças ($P>0.05$) aos consumos de MS, MO, PB, EE, FDN, CNF e NEL,
43 devido a uniformidade dos nutrientes que compunham a dieta. O coeficiente de
44 digestibilidade aparente da PB foi inferior para o tratamento Soja ($P=0.0002$) devido a
45 menor inclusão de farelo de soja que compunha a dieta. A digestibilidade do EE foi
46 superior para tratamento Megalac® ($P=0.0001$), para as demais frações nutrientes não
47 foram observados efeitos. A produção de leite foi maior no tratamento Megalac®, não
48 diferindo do tratamento Linhaça, sendo esse igual aos demais tratamentos, Girassol e
49 Soja. Quando a produção de leite foi corrigida para energia estas diferenças não foram
50 observadas. As fontes utilizadas não afetaram a eficiência alimentar, o balanço
51 energético e o perfil metabólico sanguíneo dos animais em estudo. Desta maneira os
52 grãos de oleaginosas testadas podem ser utilizadas como fonte de gordura para animais
53 do início de lactação sem que haja efeitos prejudiciais aos animais e ainda são capazes
54 de substituir sais de cálcio de ácidos graxos.

55 *Palavras-chave:* Balanço energético, consumo, energia, fonte de gordura, naturalmente
56 protegidos, produção de leite.

57 *Abreviaturas:* PLCE, produção de leite corrigida para energia; BE, balanço energético;
58 EA, eficiência alimentar; EACE, eficiência alimentar corrigida para energia; AGNE,
59 ácidos graxos não esterificados; Cr, cromo; FDA, fibra insolúvel em detergente ácido;
60 FDN, fibra insolúvel em detergente neutro.

61 **1. Introdução**

62 A evolução genética dos rebanhos leiteiros e das técnicas de manejo, ao longo dos
63 anos, tem propiciado o aparecimento de situações onde os animais expressam cada vez
64 mais seu potencial produtivo. Esse avanço na produção individual de leite foi
65 determinante para que a maioria dos rebanhos de leite saudáveis e de elevado valor
66 genético, ao início da lactação, passem por um longo período de Balanço Energético
67 Negativo (BEN), mesmo sendo ofertadas dietas de alta energia.

68 Vacas em BEN mobilizam suas reservas corporais (lipídicas e proteicas) a fim de
69 atender a demanda energética nesse período, com consequentes mudanças na sua
70 condição corporal. Esse fato é responsável por diminuir o desempenho produtivo e
71 reprodutivo no pós-parto, aumentar a incidência de transtornos metabólicos e
72 susceptibilidade a doenças em vacas de leite (WILDMAN et al.,1982; RUEGG &
73 MILTON, 1995).

74 A principal limitação tratando-se de animais de elevado mérito genético é a
75 diferença entre a demanda de nutrientes para a produção leiteira e a capacidade
76 ingestiva do animal, o que torna necessária a utilização das reservas corporais para
77 manter seu potencial genético de produção. Como estratégia para minimizar estes
78 efeitos, gorduras têm sido utilizadas na alimentação animal, visando elevar a densidade
79 energética das dietas a fim de minimizar o BEN sem prejuízos ao metabolismo dos
80 animais, bem como para modificar o perfil de ácidos graxos da gordura do leite,
81 reduzindo a participação de ácidos graxos saturados e de cadeia curta, e aumentando a
82 de ácidos graxos insaturados (GRIINARI et al., 2004; ONETTI & GRUMMER, 2004).
83 Fontes de gordura capazes de serem utilizadas como componente energético das dietas
84 de vacas leiteiras são variadas e numerosas, podendo ser classificadas nutricionalmente
85 em dois grandes grupos: as prontamente disponíveis no rúmen (gorduras livres), e as
86 gorduras rúmen-inertes ou *by pass* (sobrepassantes) podendo estas ser protegidas

87 artificialmente na forma de sais de cálcio de ácidos graxos, ou provir de fontes
88 potencialmente protegidas como nas sementes oleaginosas (NÖRNBERG, 2003).

89 Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar a inclusão de diferentes fontes e
90 gordura, protegida e/ou naturalmente protegida na dieta de vacas Jersey em lactação,
91 sobre, o consumo e digestibilidade aparente de nutrientes, perfil metabólico sanguíneo,
92 produção de leite e eficiência alimentar.

93

94 **2. Material e Métodos**

95 *2.1. Animais e localização*

96 Foram utilizadas oito vacas da raça Jersey PO multíparas (segunda e terceira
97 lactação), em média com 40 dias de lactação, peso médio inicial de 406 kg e produção
98 inicial média de 17 kg (\pm 2kg) de leite, selecionadas a partir de um rebanho de
99 aproximadamente 80 animais, com base na idade, peso, ordem de lactação e mérito
100 genético para produção leite.

101 O experimento de campo foi realizado no período de outubro a dezembro de 2013,
102 no Sistema de Pesquisa e Desenvolvimento em Pecuária Leiteira (SISPEL), da Estação
103 Experimental de Terras Baixas (ETB), do Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima
104 Temperado da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) localizado no
105 município de Capão do Leão, (31° 52' 20" de latitude Sul e 52° 21' 24" de longitude
106 Oeste, altitude média de sete metros acima do nível do mar), Rio Grande do Sul (RS),
107 Brasil. As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia e
108 Nutrição Animal (LABNUTRI), localizados na mesma estação experimental. O trabalho
109 foi realizado com aprovação dos comitês de ética da EMBRAPA Clima Temperado e da
110 Universidade Federal de Pelotas, RS, estando registrado sob protocolo nº 6850.

111

112

113 2.2. *Tratamentos e dietas experimentais*

114 Foi avaliada a inclusão das fontes de gordura, Megalac® e grãos oleaginosos de
115 Linhaça, Girassol e Soja íntegros, objetivando proteção natural dos lipídeos, em dietas
116 (Tabela 1) formuladas para serem isoprotéicas, isofibrosas e isoenergéticas (Tabela 2),
117 sendo testadas em simulador de desempenho NRC (2001). A porção volumosa foi
118 composta de silagem de milho, sendo fornecida duas vezes ao dia, objetivando sobras
119 de 10%. O concentrado, constituído das fontes de gordura, milho em grão moído, farelo
120 de trigo, farelo de soja, premix vitamínico-mineral e calcário, foi fornecido em três
121 momentos do dia, em cocho individual, separado do volumoso, objetivando consumo
122 total.

123 2.3. *Manejo experimental*

124 Os períodos experimentais foram de 14 dias, sendo dez dias de adaptação e quatro
125 dias para coleta de dados. As vacas foram ordenhadas mecanicamente, duas vezes ao
126 dia, com intervalo de 12 horas entre a ordenha da manhã (6h 30min) e a tarde (18h
127 30min). As sobras de volumoso foram retiradas e pesadas diariamente pela manhã, antes
128 do fornecimento da nova refeição. Durante o período de coleta foram tomadas amostras
129 representativas das sobras, armazenadas em congelador (-18°C), sendo misturadas e
130 resultando em uma amostra composta por período, para cada animal vaca.

131 Para estimativa da excreção fecal administrou-se 10 gramas de óxido de cromo
132 (Cr₂O₃), fracionado em duas doses diárias após as ordenhas da manhã e da tarde,
133 iniciando o fornecimento 96 horas antes do período de coleta. As coletas de fezes foram
134 realizadas pela manhã e à tarde, durante os quatro dias de coleta, próximo ao momento
135 da ordenha por evacuação voluntária ou diretamente da ampola retal, em tronco de
136 contenção. Estas foram armazenadas em sacos plásticos identificados e acondicionadas
137 em congelador (-18°C), sendo no final de cada período, misturadas em proporções
138 iguais, formando uma amostra composta por período e por vaca.

139 As coletas individuais de sangue foram realizadas no 13º e 14º dias de cada
140 período experimental, imediatamente após a ordenha da manhã, por punção jugular com
141 auxílio de tubos vacuolizados (*vacutainer*), contendo gel separador. Estas foram
142 mantidas em repouso por 10 minutos, sendo posteriormente centrifugadas a 4800 RPM
143 por 10 minutos, imediatamente após, foram acondicionadas em caixa isotérmica, com
144 gelo, e encaminhadas para análise em laboratório comercial.

145 As amostras de leite individuais foram coletadas na ordenha da manhã e da tarde,
146 no 13º e 14º dia de cada período e misturadas proporcionalmente a produção da manhã e
147 da tarde, acondicionadas em frascos específicos, contendo conservante (Bromopol) e
148 mantidas sob refrigeração até encaminhamento ao laboratório.

149 2.4. Avaliações

150 A produção de leite foi obtida fazendo-se a média de leite produzido nos quatro
151 dias de coleta de cada período, esta foi corrigida para energia através da equação
152 (SJAUNJA et al., 1990):

$$153 \text{ PLCE} = (\text{kgdeLeite} * ((383 * \% \text{Gordura}) + (242 * \% \text{Proteína}) + (165,4 * \% \text{Lactose}) +$$
$$154 20,7) / 3140$$

155 As análises do leite para gordura, proteína, lactose e uréia foram realizadas por
156 espectroscopia infravermelho, segundo a AOAC (1996, método 972.16).

157 Os ingredientes das dietas, as sobras de volumoso bem como as fezes de cada
158 animal em cada período, foram analisados bromatologicamente a fim de determinar a
159 composição e a digestibilidade individual de cada fração nutriente. Os teores de matéria
160 seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), foram determinados segundo
161 AOAC (1996, métodos 967.03, 942.05 e 954.05, respectivamente), extrato etéreo (EE)
162 por extração com éter de petróleo em sistema saquinhos filtrantes, desenvolvida pela
163 Ankom Technology Inc. (Macedon, NY) (LIU, 2011), seguindo a AOCS (2005), fibra
164 insolúvel em detergente ácido (FDA) e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN),

165 com adição de α -amilase termoestável, mas sem uso de sulfito de sódio e lignina em
166 detergente ácido (LDA) utilizando saquinhos de poliéster colocados em autoclave
167 conforme descrito por Senger, et. al (2008). Os teores de cromo (Cr) presentes no óxido
168 de cromo (Cr_2O_3) fornecido aos animais e nas fezes foi determinado por digestão nitro-
169 perclórica, com leitura em espectrofotômetro de absorção atômica segundo metodologia
170 descrita por Sarruge & Haag (1974). Seguiu-se a mesma metodologia para determinação
171 dos teores de Cálcio nas amostras dos ingredientes das dietas, sobras e fezes.

172 As estimativas de produção fecal total (PFT) para os diferentes tratamentos e
173 períodos foram obtidas levando em consideração as concentrações de cromo fecal
174 através da formula:

$$175 \quad \text{PFT} = (\text{g Cr fornecido/dia}) / (\text{g Cr/g MS fecal}).$$

176 Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados através de equação proposta
177 por Hall (2003), em que:

$$178 \quad \text{CNF} (\%) = 100 - (\% \text{FDN} + \% \text{PB} + \% \text{EE} + \% \text{MM}).$$

179 Determinou-se os coeficientes de digestibilidade aparente para matéria seca
180 (DMS), da matéria orgânica (DMO), do extrato etéreo (DEE), da fibra insolúvel em
181 detergente neutro (DFDN) e dos carboidratos não fibrosos (DCNF) das dietas
182 experimentais, conforme a formula:

$$183 \quad \text{CDA} = (\text{g nutriente consumido} - \text{g nutriente excretado}) / \text{g nutriente consumido} \times$$

184 100.

185 Avaliou-se o consumo de matéria seca (CMS) considerando a quantidade ofertada
186 e as sobras de matéria seca do volumoso após 24h, visto que para o concentrado obteve-
187 se consumo total. Os consumos de MO, PB, FDN, EE e CNF foram obtidos a partir
188 dos teores de cada fração bromatológica na matéria seca consumida. A eficiência
189 alimentar foi determinada através da média de produção de leite e produção corrigida
190 em relação ao consumo médio de MS em kg.

191 As concentrações energéticas das dietas foram obtidas a partir de equações
 192 descritas pelo NRC (2001), para energia digestível (ED), energia metabolizável (EM) e
 193 energia líquida de lactação (ELI), onde:

$$194 \text{ ED (Mcal/kg)} = ((\text{CNFdig}/100) * 4.2 + (\text{FDNdig}/100) * 4.2 + (\text{PBdig}/100) * 5.6 + ((\text{EE}-1) \\ 195 /100) * 9.4$$

$$196 \text{ EM (Mcal/kg)} = ((1.01 * \text{ED}) - 0.45) + 0.0046 * (\text{EE} - 3)$$

$$197 \text{ ELI (Mcal/kg)} = ((0.703 * \text{EM}) - 0.19) + ((0.097 * \text{EM} + 0.19) / 97) * (\text{EE} - 3)$$

198 Os coeficientes de digestibilidade aparente foram considerados para os cálculos
 199 energéticos.

200 Para determinação do balanço energético (BE) usou-se as formulas apresentadas
 201 no NRC (2001), onde:

$$202 \text{ BE (Mcal/dia)} = \text{El consumida} - \text{El manutenção} - \text{El produção, em que:}$$

$$203 \text{ Energia líquida consumida (Mcal/dia)} = \text{CMS (kg/dia)} * \text{EL (Mcal/kg de MS)}$$

$$204 \text{ Energia líquida de manutenção (Mcal/dia)} = \text{PV}^{0.75} (\text{kg}) * 0.08, \text{ e}$$

$$205 \text{ Energia líquida para produção (Mcal/dia)} = (\text{PL (kg)} * (0.0929 * \% \text{ gordura}) + (0.0547 * \\ 206 \% \text{ proteína}) + (0.0395 * \% \text{ lactose})).$$

207 Foram analisados o perfil metabólico sanguíneo através da determinação de
 208 glicose, colesterol total, e triglicerídeos utilizando método enzimático colorimétrico
 209 automatizado, ácidos graxos não esterificados (AGNE) por espectrofotometria
 210 enzimática, uréia e as concentrações das enzimas aspartato aminotransferase (AST),
 211 gama glutamiltransferase (GGT) por método cinético enzimático automatizado, em
 212 laboratório comercial na cidade de Pelotas, RS.

213 2.5. Delineamento experimental e análises estatísticas

214 O delineamento experimental seguiu um duplo quadrado latino (4 x 4), com
 215 quatro tratamentos e quatro períodos. Cada animal foi considerado uma unidade
 216 experimental. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o *software* SAS® -

217 Statistical Analysis System versão 9.0 (SAS, 2002). Os dados foram investigados
218 quanto à presença de *outliers*, através do resíduo estudentizado, testados quanto à
219 normalidade residual pelo teste de Shapiro-Wilk e quanto à homocedasticidade pelo
220 teste de Levene. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância univariada
221 (ANOVA), pelo procedimento GLM, conforme modelo estatístico:

222
$$Y_{ijkl} = \mu + Q_i + T_j + P_k + A_{(i)l} + e_{ijk}, \text{ em que:}$$

223 μ = constante geral; Q_i = efeito do quadrado latino; sendo $i = 1$ e 2 ; T_j = efeito do
224 tratamento j , sendo $j = 1, 2, 3$ e 4 ; P_k = efeito do período experimental k , sendo $k=1, 2,$
225 3 e 4 ; $A_{(i)l}$ = efeito do animal ou sequência de tratamento l , aninhada ao efeito de
226 quadrado latino, e e_{ijk} = erro experimental, associado a cada observação, pressuposto
227 NID $(0, \sigma^2)$.

228 Em seguida, as médias dos tratamentos foram ajustadas pelo método dos
229 quadrados mínimos ordinários com o comando LSMEANS (Least Squares Means) e
230 submetidas ao teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade de erro.

231

232 **3. Resultados**

233 Os consumos de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta
234 (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra em detergente neutro (CFDN), carboidratos não
235 fibrosos (CCNF), cálcio (CCa), bem como o consumo de energia líquida de lactação
236 (CNEI, Mcal/dia) não diferiram estatisticamente ($P>0.05$) (Tabela 4). O consumo de
237 matéria mineral (CMM) (kg/dia) foi superior no tratamento que utilizou Linhaça
238 (Tabela 4) como fonte de gordura ($P<0,05$). Os coeficientes de digestibilidade (Tabela
239 5) da matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), fibra em detergente neutro
240 (DFDN), e carboidratos não fibrosos (DCNF) não diferiram entre as fontes utilizadas
241 ($P>0,05$). A digestibilidade da proteína bruta (DPB) foi inferior para o tratamento com

242 adição de soja ($P < 0,05$), não sendo observadas diferenças entre os demais tratamentos.
243 A digestibilidade do extrato etéreo (DEE) foi maior no tratamento Megalac® ($P < 0,05$).

244 A produção de leite (PL, kg/dia) foi maior no tratamento Megalac®, em relação
245 aos tratamentos com Girassol e Soja, mas não diferiu do tratamento com Linhaça, sendo
246 que este também não diferiu dos tratamentos com Girassol e Soja (Tabela 6). Entretanto
247 a produção de leite corrigida para energia (PLCE, kg/dia) foi semelhante entre todos os
248 tratamentos ($P > 0,05$). A eficiência alimentar e eficiência corrigida para energia (EA,
249 EACE kg de leite/kg de MS consumida) não diferiram entre os tratamentos (Tabela 6).

250 A utilização de diferentes fontes lipídicas nas dietas nas dietas não afetou
251 ($P > 0,05$) o perfil metabólico sanguíneo dos animais utilizados no estudo (Tabela 7).

252

253 **4. Discussão**

254 *4.1. Consumo*

255 A ausência de efeitos de tratamento sobre os consumos de MS, MO, PB, EE,
256 FDN, CNF e Ca configura-se como um possível resultado esperado, levando em
257 consideração que as dietas foram formuladas para serem isoenergéticas, isoproteicas e
258 isofibrasas. Em função disso, diferenças de consumo ocorreriam apenas caso houvesse
259 rejeição, pelos animais, de alguma das fontes lipídicas. Freitas Junior et al., (2010)
260 comparou fontes de gordura na alimentação de vacas Holandês, obteve consumo de MS
261 semelhante entre a dieta controle e as que utilizaram fontes de gordura (óleo de soja
262 refinado, grão de soja in natura e sais de cálcio de ácidos graxos), porem para a dieta
263 contendo sais de cálcio apresentou menor consumo devido a aceitabilidade dessa fonte
264 pelos animais, o que não foi observado nesse estudo.

265 Repostas referentes ao consumo de nutrientes são variadas, Kennelly (1996)
266 sugeriu que a adição de gordura na alimentação de ruminantes, na forma de sementes
267 inteiras de oleaginosas tem efeitos menos prejudiciais na ingestão de matéria seca,

268 devido a uma libertação mais lenta do óleo da semente do que se a mesma quantidade
269 fosse fornecida como óleo livre, assim resultando em nenhuma diminuição no consumo
270 de matéria seca. Petit et al. (2009) também observou que os animais alimentados com o
271 mais alto nível de linhaça (15% da dieta total) não produziram efeito sobre o consumo
272 de matéria seca de vacas no início da lactação, mas, tendiam ter menor digestibilidade
273 da matéria seca.

274 Em estudos com dietas contendo sais de cálcio de ácidos graxos, apesar de
275 ocorrer redução no consumo de matéria seca, Jenkins (1993) relata que normalmente o
276 consumo de energia líquida não é reduzido, ou seja, o aumento na densidade energética
277 das rações compensaria a redução no consumo, não afetando a produção de leite. Onetti
278 e Grummer (2004) comprovaram tal hipótese em revisão de literatura onde estes autores
279 compilaram dados de 41 experimentos que avaliaram a suplementação de diferentes
280 fontes e níveis de gordura nas rações de vacas em lactação. De um total de 23
281 experimentos analisados, que usaram os sais de cálcio de ácidos graxos como fonte de
282 gordura, foi observada significativa redução no consumo de matéria seca de 0,97 kg/dia.
283 Entretanto, quando analisada a produção de leite de 21 destes estudos à média de
284 produção de leite foi aumentada em 1,29 kg/dia. Dessa forma, pressupõe-se que o
285 consumo de energia líquida não foi afetado pela redução do consumo de matéria seca.
286 Estas afirmações corroboram com um dos principais objetivos da utilização de gordura
287 na dieta de vacas lactantes, que consiste no aumento da densidade energética das dietas,
288 podendo ser reduzida as quantidades de outras fontes energéticas, ricas em carboidratos
289 não fibrosos, potenciais causadores de distúrbios como acidose em animais de alta
290 produção.

291 O maior consumo de MM encontrado para o tratamento com Linhaça pode estar
292 relacionado a uma pequena superioridade desta fração na dieta consumida, no entanto,

293 este achado parece não manter uma relação de causa e efeito com os demais resultados
294 encontrados no trabalho.

295 O consumo de MS, MO e FDN com base no PV não diferiu entre tratamentos e
296 comportaram-se dentro do esperado para animais desse mérito genético. Uma das
297 hipóteses do trabalho era que as diferentes fontes lipídicas poderiam ser processadas em
298 compartimentos diferentes do trato digestório e isso poderia produzir resultados
299 diferentes de consumo e digestibilidade, o que não ocorreu. Corrobora para essa
300 conclusão a ausência de efeito sobre o consumo de energia líquida de lactação (CELL
301 Mcal/dia) que é influenciada pela forma como a dieta é digerida e metabolizada.

302 *4.2. Digestibilidade aparente*

303 A ausência de efeitos dos tratamentos sobre a digestibilidade de MS, MO e FDN
304 ratifica o pressuposto de que as fontes lipídicas não causariam efeito nocivos sobre o
305 processo digestivo, esse achado está relacionado também ao fato de que as dietas eram
306 isoenergéticas, isoproteicas e isofibrosas.

307 Os resultados descritos pela literatura quanto aos efeitos da suplementação com
308 linhaça sobre a digestibilidade de nutrientes em vacas leiteiras são bastante
309 heterogêneos, Martin et al., (2008) observaram reduções, Gonthier et al., (2004)
310 aumento e Doreau et al., (2009) não observaram efeito.

311 Os principais fatores determinantes desses efeitos são a quantidade de lipídios
312 adicionados e a forma como são fornecidos (óleo ou semente). No presente estudo esses
313 dois fatores colaboraram para os bons resultados e as poucas diferenças, visto que, a
314 inclusão de óleo oriundo das fontes testadas ocorreu de forma razoável, provavelmente
315 inferior a 3% da MS consumida, apresentando independente da forma, certa proteção ao
316 ambiente ruminal.

317 Considerando os coeficientes de digestibilidade para a fração proteica, observa-
318 se que este foi inferior no tratamento com soja. Este fato está provavelmente associado a

319 uma maior participação desta fração, na dieta, oriunda do grão, sendo nos demais
320 tratamentos compensada com farelo de soja. Como a digestibilidade do farelo de soja é
321 maior que a do grão integral, a menor inclusão de farelo contribuiu para o efeito
322 negativo sobre a digestibilidade da PB.

323 No tratamento com Megalac a maior digestibilidade do EE em relação aos demais
324 tratamentos justifica-se no fato de que este produto é composto por gordura livre
325 saponificada que se solubiliza amplamente em meio ácido, como no abomaso.

326 Em trabalho realizado por Chouinard et al. (1998), a adição de sais de cálcio de
327 AG de cadeia longa à dieta resultou em um aumento na digestibilidade aparente da
328 gordura.

329 Nas demais fontes lipídicas, pela forma como a gordura esta disposta nos grãos,
330 ocorre algum tipo de limitação, seja pela presença de exospermas fibrosos seja pela
331 associação dessa gordura à matriz proteica do grão. Isso pode prejudicar, tanto o acesso
332 da microbiota ruminal, quanto das enzimas digestivas presentes no intestino delgado. A
333 suplementação com óleos vegetais (ácidos graxos insaturados), seria um grande
334 causador de distúrbios na fermentação ruminal. Entretanto quando essa fonte é
335 fornecida na forma de sementes oleaginosas estes distúrbios podem ser
336 significativamente reduzidos, onde o óleo é liberado mais lentamente, em taxas onde
337 não há um comprometimento na digestibilidade de nutrientes (Coppock & Wilks, 1991).

338 Quanto à digestibilidade dos CNF, embora não tenha havido efeito de tratamentos
339 ocorreu uma clara tendência para a menor digestibilidade da dieta com girassol. Isto
340 provavelmente esteja associado ao maior teor de FDA deste ingrediente (Linhaça =
341 11,63%; Girassol = 24,9%; Soja = 9,09% de FDA).

342 *4.3. Produção de leite, eficiência alimentar e balanço energético*

343 A maior produção de leite observada no tratamento Megalac® pode estar
344 relacionada a características específicas desta dieta, pois embora não tenha sido

345 constatado efeitos de tratamentos sobre a digestibilidade da MO, a maior digestibilidade
346 do EE no tratamento Megalac® pode ter sido responsável pela tendência de aumento da
347 DMO neste tratamento. Isso poderia justificar a maior produção de leite do tratamento
348 Megalac® em relação aos tratamentos girassol e soja, mas não em relação a linhaça, o
349 que se observa pela tendência de variação dos coeficientes de DMO.

350 Freitas Júnior, (2008) comparou fontes de gordura de óleo de soja refinado, grão
351 de soja *in natura* e sais de cálcio de ácidos graxos com uma dieta controle sem adição
352 de gordura. O autor observou que não houve diferença das fontes sobre a produção de
353 leite corrigida. Entretanto, os animais que receberam a ração contendo grão de soja
354 como fonte de gordura apresentaram menor produção de leite em comparação com as
355 demais rações utilizadas. Possivelmente esse resultado pode ser atribuído ao menor
356 consumo de energia digestível e menor consumo de energia líquida de lactação para os
357 animais que consumiram essa ração, pois as rações foram formuladas para possuírem a
358 mesma densidade energética e não houve diferença no consumo de matéria de seca
359 entre a ração contendo grão de soja e as demais rações experimentais.

360 A produção de leite, na maior parte dos experimentos realizados, aumenta com a
361 inclusão de gordura na dieta, porém as respostas têm sido variáveis, abrangendo desde
362 menos 4,4 a mais 9,6 kg/dia para a produção de leite corrigida para 4% de gordura por
363 kg de gordura adicionada (Shaver, 1999 citado por Scott et al., 1995). Esta considerável
364 variação na resposta à suplementação pode ser explicada por diferentes estados
365 fisiológicos das vacas experimentais, pelo tipo de gordura que compõe a dieta basal,
366 pela quantidade total de energia consumida pelo animal suplementado e também pela
367 quantidade e composição da gordura empregada (NRC, 2001).

368 Quando foi considerada a PLCE não houve efeito dos tratamentos, assim como,
369 também não foi evidenciado efeito de tratamentos para eficiência alimentar ou
370 eficiência corrigida para energia. Este achado qualifica as dietas com Linhaça, Girassol

371 e Soja como eventuais substitutos para os sabões de cálcio de ácidos graxos na
372 dependência da relação de preços entre esses insumos.

373 Wu et al. (1993), em estudo com vacas Holandês, alimentadas com uma dieta
374 controle com 3,7% de ácidos graxos e três dietas suplementadas com sebo bovino
375 (6,2% EE), gordura protegida (sais de cálcio + óleo de palma) (6,1% EE) e gordura
376 protegida por cristalização à frio (6,2% EE), encontraram eficiência alimentar, com leite
377 corrigido para 3,5% de gordura (PLCG 3,5%/CMS), variando de 1,25 a 1,36. As dietas
378 apresentavam concentração média de 31% de FDN e os resultados de eficiência não
379 foram significativos.

380 A maior eficiência alimentar deve-se à alta concentração de energia digestível e à
381 maior eficiência de utilização da energia da gordura, especialmente da gordura
382 protegida.

383 4.4. Perfil bioquímico

384 A média geral observada para a glicemia neste estudo foi de 62,09 mg/dL (Tabela
385 7), condizente com os valores fisiológicos descritos por Kaneko et al. (2008). Gaafar
386 (2004) comenta que em geral, as concentrações de glicose no sangue de vacas
387 suplementadas com gordura não são alteradas ou apresentam discreta diminuição. Outra
388 presuposição seria de que a adição de fontes de gordura suplementar possa diminuir a
389 oxidação de glicose (efeito poupador de glicose) e aumentar a sua disponibilidade para a
390 produção de leite (GRUMMER & CARROLL 1991; PALMQUIST & JENKINS,
391 1980), o que não se confirmou neste estudo. Essa ausência de efeito pode estar
392 relacionada aos eficientes mecanismos de manutenção da glicemia (GONZÁLEZ &
393 SILVA, 2008).

394 Os níveis sanguíneos de triglicerídeos apresentaram como média geral 3,34
395 mg/dL, valor este dentro da faixa normal (0 a 14 mg/dL) descrita por Kaneko et al.
396 (2008). Os níveis séricos de triglicerídeos em ruminantes refletem a baixa capacidade de

397 síntese hepática de triglicerídeos. Entretanto, após a ingestão de dietas com alta
398 densidade energética (ricas em amido), ocorre aumento da síntese hepática de ácidos
399 graxos a partir das elevadas quantidades de acetato e propionato que chegam ao fígado
400 (BRUSS, 2008), a suplementação lipídica também pode elevar suas concentrações
401 séricas devido a uma maior absorção intestinal de gorduras (JENKINS & JENNY,
402 1989; LÓPEZ et al., 2004). Entretanto, os resultados descritos na literatura a esse
403 respeito são bastante variáveis, visto que embora muitos trabalhos demonstrem efeito da
404 suplementação lipídica sobre este metabólito, outros estudos não encontraram efeito.
405 Além disso, a mobilidade sanguínea desse metabólito, demonstrada pelo elevado CV
406 das médias, também contribuiu para a ausência de efeitos (GALIOSTRO, 1992).

407 Os teores de nitrogênio no sangue (Tabela 7) foram expressos como uréia, sendo
408 que a concentração média (39,25 mg/dL) encontra-se dentro dos limites de 15 a 42
409 mg/dL descritos por Wittwer (2000), mas inferiores aos descritos por Kaneko et al.,
410 (2008) que considera normal o intervalo entre 42,8 e 64,26 mg/dL. Este constituinte foi
411 determinado considerando-se o fato de ser um indicador sensível e imediato da ingestão
412 de proteína, também por ter seus valores aumentados quando ocorre deficiência
413 energética no rúmen, limitando a capacidade da microbiota ruminal em utilizar os
414 compostos nitrogenados para a síntese de proteica (GONZÁLEZ & SILVA, 2008).

415 As concentrações séricas de colesterol (Tabela 7), embora não tenham refletido
416 diferenças de tratamentos, apresentaram valores superiores aos limites considerados
417 normais, de 120 mg/dL descrito por Kaneko et al. (2008).

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

423 O colesterol é importante por ser precursor na síntese de hormônios esteróides,
424 vitamina D, sais biliares e participar da formação das membranas celulares, (BRUSS,
425 2008). O aumento nos seus níveis séricos pode ocorrer em resposta à ingestão de níveis
426 elevados de energia na forma de lipídeos (WITTWER, 2000).

427 Elliott et al. (1993), consideram que a elevação dos níveis plasmáticos de
428 colesterol em dietas com inclusão de óleo pode estar relacionada a maior necessidade
429 deste metabólito para absorção e transporte de ácidos graxos de cadeia longa, estando
430 estes presentes nas fontes utilizadas nesse estudo. Em trabalho conduzido por Freitas
431 Júnior et al. (2010), avaliando a inclusão de óleo de soja, grãos de soja, e gordura
432 protegida como fontes de gordura na dieta, todas com 5,5% de extrato etéreo na matéria
433 seca total, constataram aumento nas concentrações de colesterol total e suas frações
434 quando comparadas aos animais submetidos à ração controle, sem adição de óleo, tendo
435 sido justificado em razão do maior consumo de ácidos graxos nas rações.

436 As concentrações séricas de AGNE são importantes metabólitos que auxiliam nas
437 avaliações nutricionais, apresenta relação direta com o processo de lipólise no tecido
438 adiposo, principalmente quando os animais encontram-se em balanço energético
439 negativo. Neste estudo as concentrações apresentaram média geral de 0,3012 mmol/L
440 (Tabela 7), valor este dentro da faixa apresentada por Kaneko et al. (2008), que
441 considera normal valores entre 0,105 e 0,350 mmol/L.

442 A ausência de efeitos de tratamento sobre as concentrações de GGT e TGO, assim
443 como os seus valores, que se mantiveram dentro da faixa de referência, já eram
444 esperados, pois essas análises foram utilizadas apenas como uma ferramenta de
445 monitoramento da homeostase hepática.

446

447 5. Conclusões

448 É possível a substituição dos sabões de cálcio de ácidos graxos por grãos de
449 oleaginosas como a soja girassol e linhaça dentro dos níveis utilizados neste estudo sem
450 efeitos deletérios à produção ou a saúde dos animais. A decisão pelo uso destas fontes
451 devera refletir a relação de preços entre os insumos.

452

453 6. Agradecimentos

454 A Embrapa Clima Temperado Estação Terras Baixas.

455

456 7. Referências bibliográficas

457 AOCS. American Oil Chemists' Society. Official Method Am 5-04, Rapid
458 determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction. Urbana: Official
459 Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 2005.

460 Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Official Methods of Analysis,
461 16th ed. AOAC, Washington, DC, USA, 1996.

462 Bruss, M. L.,. Lipids and ketones. Clinical biochemistry of domestic animals, 6, 81-115,
463 2008.

464 Coppock, C.E. E Wilks, D.L. Supplemental fat in high energy rations for lactating
465 cows: Effects on intake, digestion, milk yield, and composition. Journal Animal
466 Science, v. 69, p. 3826-3837, 1991.

467 Doreau, M.; Laverroux, S.; Normand, J.; Chesneau, G. & Glasser, F. Effect of linseed
468 fed as rolled seeds, extruded seeds or oil on fatty acid rumen metabolism and intestinal
469 digestibility in cows. Lipids, v. 44, n. 1, p. 53-62, 2009.

- 470 Elliott, J. P. et al. Diets containing high oil corn and tallow for dairy cows during early
471 lactation. *Journal Dairy Science*, Champaign, v. 76, n. 3, p. 775-789, 1993.
- 472 Freitas Júnior, I. J. E., Prada, F. P. R. L. F., Maturana, S. J. R. G. M., & Venturelli, F. C.
473 F. B. C., Parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras suplementadas com diferentes fontes
474 de gordura. *Ciência Rural*, 40, 950-956, 2010.
- 475 Freitas Júnior, J. E. Parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras suplementadas com
476 diferentes fontes de gordura. *Ciência Rural*, v. 40, n. 4, p. 950-956, 2010.
- 477 Freitas Júnior, J. E. Utilização de fontes de gordura em rações de vacas leiteiras.
478 Dissertação Mestrado – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo,
479 Pirassununga, 93p, 2008.
- 480 Gagliostro, G.A.; chilliard, Y. Utilizacion de lipidos protegidos em la nutricion de vacas
481 lecheras: II. Efectos sobre La concentracion plasmática de metabolitos y hormonas,
482 movilizacion de lipidos corporales y actividad metabólica del tejido adiposo. *Revista*
483 *Argentina de Produccion Animal*. Buenos Aires, v. 12, n. 1, p. 17-32. 1992
- 484 Gonthier, C.; Mustafa, A. F.; Berthiaume, R.; Petit, H. V.; Martineau, R.; Ouellet, D. R.
485 Effects of feeding micronized and extruded flaxseed on ruminal fermentation and
486 nutrient utilization by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 87, n. 6, p. 1854-1863,
487 2004.
- 488 González, F. H.D., & da Silva, S. C. (Eds.). *Patologia clínica veterinária: texto*
489 *introdutório*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 358p, 2008.
- 490 Griinari, J. M; Bauman, D. E; Castañeda-Gutiérrez, E. Novos conceitos relacionados à
491 manipulação da gordura do leite. In: *Congresso Brasileiro De Qualidade Do Leite*, 1.,

- 492 2004, Passo Fundo-RS. Anais... Local: Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite,
493 2004.
- 494 Grummer, R. R.; Carrol, D. J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and
495 reproductive performance of dairy cattle. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 69,
496 n. 9, p. 3838-3852, 1991.
- 497 Hall, M.B. Challenges with non-fiber carbohydrate methods. *Journal of Animal*
498 *Science*, 81, 3226-3232, 2003.
- 499 Jenkins, T.C. Lipid metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, v.76, p.3851-
500 3863, 1993.
- 501 Kaneko, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L. (Eds.). *Clinical biochemistry of domestic*
502 *animals*. Academicpress. 6, 896p. 2008.
- 503 Kennelly, J. J. The fatty acid composition of milk fat as influenced by feeding
504 oilseeds. *Animal Feed Science and Technology*, v. 60, n. 3, p. 137-152, 1996.
- 505 LIU, K. Selected topics in the analysis of lipids: modification of an AOCS official
506 method for crude oil content in distillers grains. Urbana: The AOCS Lipid Library,
507 2011. Disponível em: <<http://lipidlibrary.aocs.org/topics/oilcontent-Liu/index.htm>>.
508 Acesso em: 20. dez. 2014.
- 509 Martin, C.; Rouel, J.; Jouany, J. P.; Doreau, M.; Chilliard, Y. Methane output and diet
510 digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or
511 linseed oil. *Journal of Animal Science*, v. 86, n. 10, p. 2642-2650, 2008.
- 512 Nörnberg, J. L. Efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas Jersey na fase
513 inicial de lactação. 2003. 199p. Tese de doutorado. Programa de Pós-graduação em

- 514 Zootecnia – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
515 Porto Alegre-RS. 2003.
- 516 NRC (National Research Council). Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. ed,
517 381. 2001.
- 518 Onetti, S. G.; Grummer, R. R. Response of lactating cows to three supplemental fat
519 sources as affected by forage in the diet and stage of lactation: a meta-analysis of
520 literature. *Animal Feed Science and Technology*, v. 115, n. 1, p. 65-82, 2004.
- 521 Palmquist, D. L.; Jenkins, T. C. Fat in Lactation Rations: Review. *Journal of Dairy*
522 *Science*, v. 63, n. 1, p. 1-14, 1980.
- 523 Petit, H. V. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of
524 dairy cows fed whole flaxseed. *Journal of Dairy Science*, v. 85, n. 6, p. 1482-1490,
525 2002.
- 526 Petit, H. V.; Gagnon, N. Milk concentrations of the mammalian lignans enterolactone
527 and enterodiol, milk production, and whole tract digestibility of dairy cows fed diets
528 containing different concentrations of flaxseed meal. *Animal Feed Science and*
529 *Technology*, v. 152, n. 1, p. 103-111, 2009.
- 530 Ruegg, P. L.; Milton, R. L. Body condition scores of Holstein cows on Prince Edward
531 Island, Canada: relationships with yield, reproductive performance, and disease. *Journal*
532 *of Dairy Science*, v. 78, n. 3, p. 552-564, 1995.

- 533 Sarruge, J.R.; Haag, H.P. Análise química em plantas. *Escola Superior de Agricultura*
534 *"Luiz de Queiroz"* (ESALQ), Departamento de Química, Piracicaba, São Paulo, Brasil,
535 56p. 1974.
- 536 Scott, T.A. et al. Effects of rumen-inert fat on lactation, reproduction, and health of high
537 producing Holstein herds. *J. Dairy Sci.*, Champaign, v. 78, n. 11, p. 2435-2451, 1995.
- 538 Senger, C.C.D.; Kozloski, G.V.; Sanchez, L.M.B.; Mesquita, F.R.; Alves, T.P.;
539 Castagnino, D.S. Evaluation of autoclave procedures for fiber analysis in forage and
540 concentrate feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology*, v.146, p.169-174, 2008.
- 541 Statistical Analysis System - SAS. The SAS system for windows.v.9.0 Cary: SAS
542 Institute Inc., 2002.
- 543 Wildman, E. E. et al. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to
544 selected production characteristics. *Journal of Dairy Science*, v. 65, n. 3, p. 495-501,
545 1982.
- 546 Wittwer, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos
547 bovinos. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H. et al. (Eds.) Perfil
548 metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre:
549 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 9-22. 2000.
- 550 Wu, Z.; Huber, J. T. Relationship between dietary fat supplementation and milk protein
551 concentration in lactating cows: a review. *Livestock Production Science*, v. 39, p. 141-
552 155, 1993.

Tabela 1. Composição bromatológica dos ingredientes utilizados nas dietas.

Ingredientes	MS	MO	PB	EE	FDN	CNF	Ca	NEL
	%	% MS						Mcal/kg MS
Milho, silagem	27,10	95,86	8,79	3,72	45,71	37,64	0,21	1,72
Milho, grão	84,39	98,72	9,00	4,46	13,51	71,76	0,03	2,23
Soja, farelo	87,7	93,43	53,24	3,40	13,79	23,01	0,34	2,09
Trigo, farelo	86,41	93,92	17,33	5,89	47,77	22,93	0,15	1,78
Megalac®	95,98	79,73	-	88,56	-	-	10,00	-
Linhaça	93,89	96,28	23,84	39,49	20,44	12,51	0,21	3,18
Girassol	92,36	97,33	18,12	26,87	37,21	15,13	0,20	2,60
Soja	88,39	95,34	40,79	21,47	23,22	9,86	0,25	2,77
Mineral-vitamínico	95,64	13,5	-	-	-	-	22,17	-
Calcário	93,19	9,4	-	-	-	-	36	-
Alcamix	96,0	5,0	-	-	-	-	14,107	-

Tabela 2. Composição bromatológica das dietas consumidas.

Composição (% MS)	Tratamentos			
	M	L	G	S
MS	40,01	39,86	40,24	41,62
MO	93,17	92,91	93,21	93,13
PB	19,00	19,47	19,82	19,70
EE	5,69	5,83	5,92	5,80
FDN	31,07	30,98	31,06	31,06
CNF	35,17	33,98	33,85	34,02
Ca(g/kg MS)	0,87	0,95	0,95	0,86
NEL (Mcal/kg MS)	1,99	1,97	1,96	1,95

556

Tabela 3. Participação dos ingredientes nas dietas consumidas.

Ingredientes (% de MS)	Tratamentos			
	M	L	G	S
Volumoso ^a	8,61	8,65	8,28	7,96
Concentrado	7,53	7,42	7,45	7,84
Milho, grão	2,32	2,00	2,00	2,39
Trigo, farelo	1,55	1,20	0,14	1,29
Soja, farelo	2,80	2,49	2,79	1,35
Megalac®	0,47	-	-	-
Linhaça	-	1,20	-	-
Girassol	-	-	2,00	-
Soja	-	-	-	2,29
Mineral-vitamínico	0,19	0,24	0,24	0,24
Alcamix	0,14	0,14	0,14	0,14
Calcário	0,02	0,12	0,11	0,11
Total	16,15	16,08	15,73	15,81

557

Tabela 4. Consumo de matéria seca (CMS) matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra insolúvel em detergente neutro (CFDN), carboidratos não fibrosos (CCNF), matéria mineral (CMM), cálcio (CCa), consumo de energia líquida (CNEI), e relações dos consumos de MS, MO e FDN com o peso vivo dos animais (MS PV), (MO PV) e (FDN PV).

Variáveis	Tratamentos				CV (%)	p-valor
	M	L	G	S		
	Consumo (kg/dia)					
CMS	16,15	16,08	15,73	15,81	4,90	0,6676
CMO	15,05	14,94	14,67	14,72	5,03	0,7142
CPB	3,06	3,12	3,11	3,10	3,10	0,5843
CEE	0,91	0,93	0,92	0,91	3,76	0,5355
CFDN	5,03	4,99	4,90	4,92	8,20	0,9082
CCNF	5,67	5,46	5,32	5,38	5,03	0,0860
CMM	1,09 ^{ab}	1,13 ^a	1,06 ^b	1,08 ^b	3,28	0,0067
CCa	0,14	0,15	0,14	0,13	20,42	0,5492
CNEI (mcal/dia)	36,00	35,76	35,45	35,33	2,45	0,4334
	Consumo (% de PV)					
MS PV	4,02	4,00	3,90	3,93	5,07	0,6337
MO PV	3,74	3,72	3,64	3,66	5,19	0,6818
FDNcp PV	1,25	1,24	1,21	1,22	8,41	0,8741

560

Tabela 5. Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), proteína bruta (DPB), extrato etéreo (DEE), fibra insolúvel em detergente neutro (DFDN) e carboidratos não fibrosos (DCNF).

Variáveis	Tratamentos				CV (%)	p-valor
	M	L	G	S		
DMS	78,07	77,39	76,02	76,31	2,50	0,1579
DMO	79,33	78,59	77,04	77,43	2,35	0,0820
DPB	84,27 ^a	83,77 ^a	85,27 ^a	80,71 ^b	1,99	0,0002
DEE	79,15 ^a	70,42 ^b	67,14 ^b	66,49 ^b	6,50	0,0001
DFDN	61,15	62,30	59,33	59,90	7,42	0,5687
DCNF	91,42	90,03	88,37	91,61	2,65	0,0514

561

562

Tabela 6. Efeito de diferentes fontes de gordura na produção de leite (PL), Produção de leite corrigida para energia (PLCE), eficiência alimentar (EA), eficiência alimentar corrigida para energia (EACE) e balanço energético.

Variáveis	Tratamentos				CV (%)	p-valor
	M	L	G	S		
PL	26,51 ^a	25,57 ^{ab}	24,98 ^b	24,65 ^b	4,15	0,0132
PLCE	26,93	26,39	25,55	25,67	4,53	0,1012
EA	1,64	1,59	1,58	1,56	6,98	0,5184
EACE	1,67	1,64	1,62	1,62	6,98	0,8354
BE	4,99	5,10	4,711	4,68	44,16	0,9721

563

Tabela 7. Componentes metabólicos sanguíneos.

Variáveis	Tratamentos				CV (%)	p-valor
	M	L	G	S		
Glicose	61,81	63,06	62,00	61,50	5,85	0,8405
Triglicerídeos (mg/dL)	3,56	3,25	3,81	2,75	72,23	0,8338
Ureia	36,18	38,87	43,06	38,87	13,99	0,1309
Colesterol	184,87	171,00	160,68	173,56	9,93	0,0772
AGLivres (mmol/L)	0,27	0,28	0,36	0,28	30,51	0,2379
GGT (U/L)	35,06	37,62	35,06	37,56	6,90	0,0750
TGO (U/L)	89,25	85,68	89,81	84,43	6,91	0,2406

6. Referências bibliográficas

ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 7, p. 1598-1624, 2000.

AMBROSE, D.; KASTELIC, J. P.; CORBETT, R.; PITNEY, P. A.; PETIT, H. V.; SMALL, J. A. & ZALKOVIC, P. Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed a diet enriched in alpha-linolenic acid. **Journal of Dairy Science**. v. 89, n. 8, p. 3066-3074, 2006.

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

AOCS. American Oil Chemists' Society. Official Method Am 5-04, Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction. Urbana: Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 2005.

ARRIAGA, H.; SALCEDO, G.; MARTÍNEZ-SULLER, L.; CALSAMIGLIA, S.; MERINO P.. Effect of dietary crude protein modification on ammonia and nitrous oxide concentration on a tie-stall dairy barn floor. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.7, p.3158-3165. 2010.

ASHES, J. R., VINCENT WELCH, P. S., GULATI, S. K., SCOTT, T. W., BROWN, G. H., & BLAKELEY, S. Manipulation of the fatty acid composition of milk by feeding protected canola seeds. **Journal of Dairy Science** v. 75, n. 4, p. 1090-1096, 1992.

ASHES, J. R.; GULATI, S. K.; SCOTT, T. W. Potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. Symposium: New approaches to changing milk composition. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.7, p.1505-1519, 1997.

BATEMAN, H. G.; CLARK, J. H. Soybean based feeds for dairy cows, Illini Dairy Net, The online resource for the dairy industry. Disponível em:

www.livestocktrail.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=327lini.Dairy Net Papers, 2000. Acesso em: 30 novembro 2014.

BAUCHART, D. Lipid absorption and transport in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.3864-3881, 1993.

BAUMAN D.E.; HARVATINE K. J.; LOCK A. L. Nutrigenomics, Rumen-Derived Bioactive Fatty Acids, and the Regulation of Milk Fat Synthesis. **Annu. Rev. Nutr.** 31:299-319. 2011.

BAUMAN, D. E.; GRINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science.**, Amsterdam, v. 70, p. 15-29, 2001.

BAUMAN, D. E.; LOCK, A. L. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows. In: Proc. Tri-State Dairy Nutr. Conf. pp. 2006.p. 14.

BREMER, J. Carnitine metabolism and functions. **Physiological Reviews**, v.63, p.1420-80, 1983

CAVALIERI, F.L.B. **Lipídeos dietéticos na produção de embriões, na composição do leite e no perfil metabólicos de vacas da raça Holandesa.** Maringá. UEM, Universidade Estadual de Maringá. 2003, 104p. (Tese doutorado).

CAVALIERI, F.L.B. **Lipídeos dietéticos na produção de embriões, na composição do leite e no perfil metabólicos de vacas da raça Holandesa.** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2003. 101p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, 2003.

CAVALIERI, F.L.B.; SANTOS, G.T.; MATSUSHITA, M. et al. Short Communication: Milk production and milk composition of dairy cows fed Lac100[®] or whole flaxseed. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 3, p413-416, 2005.

CERRI, R.L.A.; JUCHEM, S.O.; CHEBEL, R.C. et al. Effect of fat source differing in fatty acid profile on metabolic parameters, fertilization, and embryo quality in high-producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.1520-1531, 2009b

CHALUPA, W.; RICKABAUGH, B.; KRONFELD, D. S.; SKLAN, D. Ruminal fermentation in vitro as influenced by long chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 67, n. 7, p. 1439-1444, 1984.

CHALUPA, W.; VECCIARELLI, B.; ELSE, E. et al. Ruminal fermentation "in vitro" of long chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 5, p. 1293-1303, 1986.

CHOI, B. R.; PALMQUIST, D. L.; ALLEN, M. S. Cholecystokinin mediates depression of feed intake in dairy cattle fed high fat diets. **Domest. Anim. Endocrinol**, Stoneham, v. 19, p.159–175, 2000.

CHOI, B.R.; PALMQUIST, D.L. High fat diets increase plasma cholecystokinin and pancreatic polypeptide, and decrease plasma insulin and feed intake in lactating cows. **British Journal of Nutrition**, London, v. 126, n. 11, p. 2913–2919, 1996.

CHURCH D. C. El Ruminat: Fisiología Digestiva y Nutrición. 3ª edição. **Acribia** (Zaragoza, Espanha). 1988.

CLARK, P.W.; ARMENTANO, L.E. Effectiveness of neutral detergent fiber in whole cottonseed and dried distillers grains compared with alfalfa haylage. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.2644-2650, 1993.

CONN, ERIC E. Cyanide and cyanogenic glycosides. **Herbivores: Their interaction with secondary plant metabolites**, Academic Press, Inc., New York-London, p. 387-412, 1979.

COPPOCK, C.E. e WILKS, D.L. Supplemental fat in high energy rations for lactating cows: Effects on intake, digestion, milk yield, and composition. **Journal Animal Science**, v. 69, p. 3826-3837, 1991.

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

COSTA, M. G. Rações com diferentes fontes de gordura para vacas em lactação. Tese – Título de Doctor Scientiae. **UFV**, Minas Gerais, 2008.

DEMEYER, D. and DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. **Proceedings of the Nutrition Society**, 58, 593–607.1999.

DHIMAN, T. R., SATTER, L. D., PARIZA, M. W., GALLI, M. P., ALBRIDHT, K. AND TOLOSA, M. X. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 5, p. 1016-1027, 2000.

DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal of Nutrition**, Suppl. 1,78: 15-35. 1997.

DOREAU, M.; LAVERROUX, S.; NORMAND, J.; CHESNEAU, G. & GLASSER, F. Effect of linseed fed as rolled seeds, extruded seeds or oil on fatty acid rumen metabolism and intestinal digestibility in cows. **Lipids**, v. 44, n. 1, p. 53-62, 2009.

DRACKLEY, J. L. et al. Infusion of long-chain fatty acids varying in saturation and chain length into abomasum of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n. 6, p. 1517-1526,1992.

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

FENG, D.; SHEN, Y.; CHAVEZ, E. R. Effectiveness of different processing methods in reducing hydrogen cyanide content of flaxseed. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 8, p. 836-841, 2003.

FRANCO, M. Gordura protegida é boa fonte de energia. **DBO**. Ano 26, nº 321, p. 45, 2007.

FREITAS JÚNIOR, J. E. **Utilização de fontes de gordura em rações de vacas leiteiras. 2008. 93p** Dissertação Mestrado – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

FREITAS JÚNIOR, J. E. Parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Ciência Rural**, v. 40, n. 4, p. 950-956, 2010.

GARNSWORTHY, P. C. Fat in dairy cow diets. In: WISEMAN, J.; GARNSWORTHY, P. C. **Recent developments in ruminant nutrition 4**. Nottingham: University Press, 2002. 600p.

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, n. 12, p. 4687-4703, 2008.

GLASSER, F.; FERLAY, A.; DOREAU, M.; SCHMIDELY, P.; SAUVANT, D.; CHILLIARD, Y. Long-chain fatty acid metabolism in dairy cows: A meta-analysis of milk fatty acid yield in relation to duodenal flows and de novo synthesis. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p.2771-2785, 2008.

GONTHIER, C.; MUSTAFA, A. F.; BERTHIAUME, R.; PETIT, H. V.; MARTINEAU, R.; OUELLET, D. R. Effects of feeding micronized and extruded flaxseed on ruminal fermentation and nutrient utilization by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 6, p. 1854-1863, 2004.

GRIINARI, J. M; BAUMAN, D. E; CASTAÑEDA-GUTIÉRREZ, E. Novos conceitos relacionados à manipulação da gordura do leite. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 1., 2004, Passo Fundo-RS. **Anais...** Local: Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite, 2004.

GRUMMER, R. R.; CARROL, D. J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 9, p. 3838-3852, 1991.

GRUMMER, R.R. Ruminal inertness vs digestibility of fat supplements: can there be harmony? In: CORNELL CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 57., 1995, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, p. 13-24, 1995.

HARFOOT, C. G.; HAZLEWOOD, G. P. Lipid metabolism in the rumen. In: The rumen microbial ecosystem. **Springer Netherlands**, 1997. p. 382-426.

ÍTAVO, Luís Carlos Vinhas et al. Substituição da silagem de milho pela silagem do bagaço de laranja na alimentação de vacas leiteiras: consumo, produção e qualidade do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 5, p. 1498-1503, 2000.

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

KENNELLY, J. J. The fatty acid composition of milk fat as influenced by feeding oilseeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 60, n. 3, p. 137-152, 1996.

KHORASANI, G. R.; KENNELLY, J. J. Effect of added dietary fat on performance, rumen characteristics, and plasma metabolites of midlactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 9, p. 2459-2468, 1998.

KHORASANI, G.R.; BOER, G.; ROBINSON, P.H., et al. Effect of canola fat on ruminal and total tract digestion, plasma hormones and metabolites in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.492-501, 1992.

KOZLOSKI G.V., Bioquímica dos ruminantes. 3ª edição. Ed. da **UFSM** (Santa Maria, RS). 140p. 2012.

LIU, K. Selected topics in the analysis of lipids: modification of an AOCS official method for crude oil content in distillers grains. Urbana: The AOCS Lipid Library, 2011. Disponível em: <<http://lipidlibrary.aocs.org/topics/oilcontent-Liu/index.htm>>. Acesso em: 20. dez. 2014.

MACHMÜLLER, A.; KREUZER, M. Methane suppression by coconut oil and associated effects on nutrient and energy balance in sheep. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 79, n. 1, p. 65-72, 1999.

MANSFIELD, H. R.; STERN, M. D. Effects of soybean hulls and lignosulfonate-treated soybean meal, on ruminal fermentation in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 4, p. 1070-1083, 1994.

MARTIN, C.; ROUEL, J.; JOUANY, J. P.; DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 10, p. 2642-2650, 2008.

McGUFFEY, R.K.; SCHINGOETHE, D.J. Whole sunflower seeds for high producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**., v.65, p.1479-1483, 1982.

MÜHLBACH, P. R. F. et al. **Aspectos nutricionais que interferem na qualidade do leite**. In: ENCONTRO ANUAL DA UFRGS SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 2000, Porto Alegre. [Anais...] Porto Alegre: Departamento de Zootecnia da UFRGS, 2000. p. 73-102.

MULLER, M. et al. Diferentes fontes de lipídeos sobre o desempenho e características da carcaça de novilhas de corte confinadas. **Animal Science, Penicuik**, v.27, p. 131 – 137, 2005.

MULLER, M. et al. Diferentes fontes de lipídeos sobre o desempenho e características da carcaça de novilhas de corte confinadas. **Animal Science, Penicuik**, v.27, p. 131 – 137, 2005.

NETO, G. F.; MOURA, M.T.; Gordura Protegida - 30 anos no mercado sempre com as mesmas dúvidas. **Nutrition for Tomorrow** – A revista da produção animal. N° 09 – ano 04 p. 52-54, 2012.

NEVES, C.A.; DOS SANTOS, W.B.R.; SANTOS, G.T., et al. Production performance and milk composition of dairy cows fed extruded canola seeds treated with or without lignosulfonate. **Animal Feed Science and Technology**, v.154, p.83-92, 2009.

NÖRNBERG, J. L. **Efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas Jersey na fase inicial de lactação**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003.

NÖRNBERG, J. L.; López, J.; Stumpf Júnior, W.; Costa, P. B.; Schafhäuser Júnior, J. Desempenho de vacas Jersey suplementadas com diferentes fontes

lipídicas na fase inicial da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1431-1438, 2006.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 7.ed. Washington, DC.: **National Academy of Sciences**, 381p, 2001.

ONETTI, S. G.; GRUMMER, R. R. Response of lactating cows to three supplemental fat sources as affected by forage in the diet and stage of lactation: a meta-analysis of literature. **Animal Feed Science and Technology**, v. 115, n. 1, p. 65-82, 2004.

PALMQUIST, D. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 4, p. 1354-1360, 1991.

PALMQUIST, D. L. Utilización de lípidos en dietas de rumiantes. Anales XII Curso de especialización **FEDNA**, 1996.

PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Fat in Lactation Rations: Review. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 1, p. 1-14, 1980.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de Lipídeos. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, cap.13, 2006.

PALMQUIST, D.L.; BEAULIEU, A.D.; BARBANO, D.M. Feed and animal factors influencing milk fat composition. **Journal of Dairy Science**. 76:1753–71, 1993.

PETIT, H. V. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 6, p. 1482-1490, 2002.

PETIT, H. V.; GAGNON, N. Milk concentrations of the mammalian lignans enterolactone and enterodiol, milk production, and whole tract digestibility of dairy cows fed diets containing different concentrations of flaxseed meal. **Animal Feed Science and Technology**, v. 152, n. 1, p. 103-111, 2009.

PETIT, H. V.; GERMIQUET, C.; LEBEL, D. Effect of feeding whole, unprocessed sunflower seeds and flaxseed on milk production, milk composition, and prostaglandin secretion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 11, p. 3889-3898, 2004.

PINTO, J.H.E.; FONTANA, A. Canola e Girassol na alimentação animal. **Simpósio Sobre Ingredientes na Alimentação Animal**, p. 109-134, 2001.

REIDELBERGER, R. D. Cholecystokinin and control of food intake. **British Journal of Nutrition**, London, v. 124, n. 8, p. 1327-1333, 1994. Supplement.

RUEGG, P. L.; MILTON, R. L. Body condition scores of Holstein cows on Prince Edward Island, Canada: relationships with yield, reproductive performance, and disease. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 3, p. 552-564, 1995.

RYAN, Clarence Augustine. Proteolytic enzymes and their inhibitors in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 24, n. 1, p. 173-196, 1973.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P.,. Análise química em plantas. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (**ESALQ**), Departamento de Química, Piracicaba, São Paulo, Brasil, 56p. 1974.

SCHAUFF, D. J.; CLARK, J. H. Effects of feeding diets containing calcium salts of long-chain fatty acids to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 7, p. 2990-3002, 1992.

SCHAUFF, D.; CLARK, J.; DRACKLEY, J. Effects of feeding lactating dairy cows diets containing extruded soybeans and calcium salts of long chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 7, p. 3003-3019, 1992.

SECCHIARI, P.; ANTONGIOVANNI, M.; MELE, M.; SERRA, A.; BUCCIONI, A.; FERRUZZI, G.; PAOLETTI, F.; PETACCHI, F. Effect of kind of dietary fat on the quality of milk fat from Italian Friesian cows. **Livestock production science**, v. 83, n. 1, p. 43-52, 2003.

SENGER, C.C.D.; KOZLOSKI, G.V.; SANCHEZ, L.M.B.; MESQUITA, F.R.; ALVES, T.P.; CASTAGNINO, D.S. Evaluation of autoclave procedures for fiber

analysis in forage and concentrate feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, v.146, p.169-174, 2008.

SHINGFIELD KJ, et al., Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. **Animal Science**. 77: 165-79, Part 1, August 2003.

SJAUNJA, L.O., BAEVRE, L., JUNKKARINEN, L., PEDERSEN, J., SETÄLÄ, J.,. A Nordic proposal for an energy corrected milk (ECM) formula. In: Proceedings of the 27th Session of **International Committee of Recording and Productivity of Milk Animal**, France, 156-157, 1990.

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

SMITH, W. A. Fats for lactating dairy cows. In: CONGRESS OF THE SOUTH AFRICAN SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION, 29., Stellenbosch, 1990. **Animal Production**. Stellenbosch: University of Stellenbosh, 1990. p.1-10.

STAPLES, C. R.; BURKE, J. M.; THATCHER, W. W.; Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. **Journal Dairy Science**, v. 81, p. 856 - 871, 1998.

STAPLES, C. R.; WILTBANK, M. C.; GRUMMER, R. R.; GUENTHER, J. N.; SARTORI, R.; DIAZ, F. J.; BERTICS, S.; MATTOS, R.; THATCHER, W. W. Effect of long chain fatty acids on lactation performance and reproductive tissues of Holstein cows. **Journal Dairy Science**, v. 83, p. 278, 2000.

STAPLES, Charles R. Milk fat depression in dairy cows-Influence of Supplemental fats. In: Florida **Ruminant Nutrition Symposium**, Gainesville, Florida. 2006.

THEURER, M.L.; MCGUIRE, M.A.; SANCHEZ, W.K.; Sais de cálcio de ácidos Graxos poliinsaturados fornecem mais EFA para vacas em lactação. **Pacific Northwest Nutrition Conference**, 2002. Disponível em:

<http://www.qgncarbonor.com.br/includes/arquivos/artigos/nutricaoanimal/Elliot_Block_Rumen_Health_2004_port.pdf> Acesso: 30 julho 2014.

TYMCHUK, S. M.; KHORASANI, G. R.; KENNELLY, J. J. Effect of feeding formaldehyde-and heat-treated oil seed on milk yield and milk composition. **Canadian journal of animal science**, v. 78, n. 4, p. 693-700, 1998.

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

VAN NEVEL, C.; DEMEYER, D., Feed additives and other interventions for decreasing methane emissions. In: Wallace, R.J., Chesson, A. (Eds.), **Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding**. VCH Publishers, New York, p. 329–349, 1995.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2. ed. Cornell: Univesrsity Press, Ithaca, New York, 476p, 1994.

VARGAS, L. N. et al. Adição de lipídeos na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n.1, p. 522-529, 2002.

VASQUEZ-AÑON, M.; BERTICS, S. J.; GRUMMER, R. R. The effect of energy source during mid to late lactation on liver triglyceride and lactation performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 10, p. 2504-2512, 1997.

VILELA, D.; MATOS, L.; ALVIM, M.; Matioli, J. B. Utilização de gordura protegida durante o terço inicial da lactação de vacas leiteiras, em pastagem de coast-cross. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 10, p. 1503-1509, 2002.

VILLELA, S.D.J.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C. Caroço de algodão para vacas leiteiras 2. Efeito na digestão total e parcial dos ruminantes, taxa de passagem da digesta ruminal e degradação da matéria seca e proteína bruta. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.1, p.186-194, 1997.

WACHIRA, A.M. et al. Effects of dietary fat source and breed on the carcass composition, n-3 polyunsaturated fatty acid and conjugated linoleic acid content of sheep meat and adipose tissue. **British Journal of Nutrition**, v.88, p. 697-709, 2002.

WILDMAN, E. E. et al. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 3, p. 495-501, 1982.

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

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